

**PENURUNAN IgG4 ANTI FILARIA  
DENGAN Bm14-ELISA PADA PENDUDUK  
DI DAERAH ENDEMIS FILARIASIS *Brugia timori*  
SETELAH PENGOBATAN MASSAL DEC-ALBENDAZOL**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
MAGISTER ILMU BIOMEDIK (M. Biomedik)**

**DEVITA FEBRIANI PUTRI  
NPM : 0706170841**



**UNIVERSITAS INDONESIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
KEKHUSUSAN PARASITOLOGI  
JAKARTA  
JUNI 2009**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar.**

**Nama : Devita Febriani Putri**  
**NPM : 0706170841**  
**Tanda Tangan :**



**Tanggal : 24 Juni 2009**

## HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Devita Febriani Putri  
NPM : 0706170841  
Program Studi : Ilmu Biomedik Kekhususan Parasitologi  
Judul Tesis : Penurunan IgG4 anti filaria dengan Bm14-  
ELISA pada Penduduk di Daerah Endemis  
Filariasis *Brugia timori* setelah Pengobatan  
Massal DEC-Albendazol

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Biomedik pada Program Studi Ilmu Biomedik Kekhususan Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr.drs.Heri Wibowo, MS

Pembimbing II : Dr.dra. Taniawati Supali

Penguji I : Dra. Rawina Winita, DAP&E., MS.

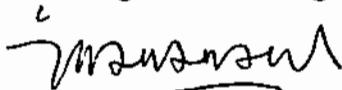
Penguji II : dr. Nafrialdi, SpPD., Ph.D

Penguji III : dr. I. Nengah Darna, M.Kes.

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 24 Juni 2008

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedis



Dr.rer.physiol.dr.Septelia Inawati Wanandi

## KATA PENGANTAR

Penulis memanjatkan puji syukur kehadiran ALLAH Subhanahuwata'ala atas segala limpahan rahmat dan ridho-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan Tesis yang berjudul **Penurunan IgG4 anti filaria dengan Bm14-ELISA pada Penduduk di Daerah Endemis Filariasis *Brugia timori* setelah Pengobatan Massal DEC-Albendazol**. Tesis ini dilaksanakan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi di Program Magister Ilmu Biomedik.

Terselesainya tesis ini merupakan ikhtiar penulis yang tak luput dari bantuan, dukungan, dan bimbingan berbagai pihak. Untuk itu, dalam kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada :

1. Dr. dr. Ratna Sitompul, Sp.M (K) sebagai dekan FKUI dan Prof dr Menaldi Rasmin Sp.P (K), FCCP sebagai Dekan periode 2004-2008 yang menerima saya sebagai mahasiswa biomedik .
2. Dr. rer. physiol.dr. Septelia Inawati W sebagai Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan pengarahan selama penulis menjalankan pendidikan.
3. Prof. dr. Saleha Sungkar, MS, DAP&E,SpParK sebagai Kepala Departemen Parasitologi FKUI yang telah memberikan dukungan selama masa studi.
4. Dra. Hendri Astuty, MS sebagai Ketua Kekhususan Parasitologi FKUI atas nasehat dan motivasi selama masa pendidikan.
5. Dr. drs. Heri Wibowo, MS sebagai dosen pembimbing pertama dalam tesis ini. Terima kasih atas masukan, bimbingan, nasehat dan membantu penulis hingga terselesainya tesis ini.
6. Dr. dra.Taniawati Supali sebagai dosen pembimbing kedua dalam tesis ini. Terima kasih atas semua saran, bantuan, bimbingan dan dukungan yang diberikan selama penulis mengerjakan tesis.
7. Prof. dr. Is Suhariah Ismid, DTM&H, SpParK yang telah membimbing, memberi saran selama penulisan tesis ini.

9. Seluruh staf pengajar dan karyawan di Departemen Parasitologi FKUI, atas segala bantuan selama proses pendidikan.
  10. Keluargaku tercinta Papa yang telah mengajarku untuk selalu mempunyai hati yang ikhlas dan mulia, Mama yang telah membuatku mengerti akan arti kesetiaan, ketabahan dan kesabaran, serta Kakakku Anjenk, untuk membuatku menjadi dewasa, tegar, dan lebih bijaksana menjalani hidup.
  11. Seseorang yang insyaAllah akan mengenakan separuh (dien)ku kelak, untuk melewati masa-masa sulit dan atas dukungan, semangat, perhatian, serta doa yang tiada henti.
  12. Sahabatku Mbak Lani Meliany dan Mbak Komariah atas kerjasama, berbagi suka dan duka, nasehat, serta dukungan selama masa pendidikan.
  13. Teman-teman seperjuangan dan kakak-kakak tingkat di Program Magister Ilmu Biomedik atas dorongan semangat dan kerjasamanya selama masa pendidikan.
  14. Teman – teman hebat yang selalu memberikan dukungan yang sangat luar biasa, mohon maaf apabila namanya tidak tercantum disini. Dan semua guru yang telah mendidik semenjak kecil hingga sekarang. Serta semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan tesis ini.
- Semoga atas bantuan, arahan dan bimbingan yang tulus menjadi amal ibadah bagi kita semua dan ALLAH Subhanahuwata'alla membalas kebaikan mereka. Akhirnya, penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu saran dan masukan sangat diharapkan, mudah-mudahan tesis ini bermanfaat bagi kita semua.

Jakarta, 24 Juni 2009

Devita Febriani Putri

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Devita Febriani Putri  
NPM : 0706170841  
Program Studi : Ilmu Biomedik  
Departemen : Parasitologi  
Fakultas : Kedokteran  
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Penurunan IgG4 anti filaria dengan Bm14-ELISA pada Penduduk di Daerah Endemis Filariasis *Brugia timori* setelah Pengobatan Massal DEC-Albendazol

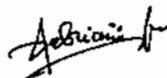
beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 24 Juni 2009

Yang Menyatakan



( Devita Febriani Putri )

## ABSTRAK

Nama : Devita Febriani Putri  
Program Studi : Ilmu Biomedik Kekhususan Parasitologi  
Judul : Penurunan IgG4 anti filaria dengan Bm14-ELISA pada  
Penduduk di Daerah Endemis Filariasis *Brugia timori* setelah  
Pengobatan Massal DEC-Albendazol.

Filariasis limfatik adalah penyakit tular vektor yang disebabkan oleh 3 spesies cacing filaria yaitu *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, dan *Brugia timori*. Filariasis ditargetkan untuk dieliminasi pada tahun 2020 oleh WHO dengan merekomendasikan pengobatan masal (MDA) dengan dosis tunggal kombinasi DEC 6 mg/kg berat badan + ALB 400 mg, selama 5 – 10 tahun. Teknik diagnostik yang digunakan adalah pemeriksaan mikrofilaria pada sediaan darah malam, namun teknik ini memiliki banyak kekurangan, sehingga perlu digunakan metode diagnosis lain, serologi, untuk memantau program eliminasi filariasis. Diagnosis serologi dengan antigen rekombinan *B.malayi* Bm14, mendeteksi antibodi IgG4 antifilaria. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan penurunan prevalensi mikrofilaria berdasarkan mikroskopis dengan penurunan respon antibodi IgG4 antifilaria berdasarkan uji ELISA dengan antigen rekombinan Bm14 sebelum dan sesudah pengobatan masal, serta melihat sensitivitas dan spesifisitas antigen rekombinan Bm14 sebagai alat diagnosis baru untuk memantau pengobatan masal filariasis.

Studi longitudinal dilakukan di daerah endemik filariasis *B. timori* di Kabupaten Alor, Nusa Tenggara Timur. Pengukuran kadar IgG4 anti filaria menggunakan ELISA-Bm14 dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopik untuk dilihat sensitivitas dan spesifisitasnya. Kemudian dilihat pola penurunan kadar IgG4nya terhadap teknik mikroskop selama pengobatan 5 tahun. Dari 51 sampel serum yang diperiksa, didapatkan hasil sensitivitas (94%) dan Nilai Duga Negatif (NDN) yang tinggi 88% ( $p=0.000$ ). Dengan intervensi pengobatan dapat menurunkan kadar IgG4 antifilaria yang bermakna pada kelompok Mf+ELISA+ (*True positif*) dan Mf-ELISA+ (*False Positif*), sehingga uji diagnostik serologi menggunakan ELISA-Bm14 dapat digunakan untuk menentukan keberhasilan program pemberantasan filariasis di Indonesia.

**Kata kunci :**

Filariasis, *Brugia timori*, Mikrofilaria, IgG4, DEC – Albendazol

## ABSTRACT

Nama : Devita Febriani Putri  
Program Studi : Ilmu Biomedik Kekhususan Parasitologi  
Judul : Decrease of IgG4 anti filaria with Bm14-ELISA in people living in an endemic area of *Brugia timori* after mass treatment of DEC-Albendazole

Lymphatic filariasis is a disease transmitted by mosquito vectors which is caused by 3 spesies of filarial worms, *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, and *Brugia timori*. Filariasis has been targetted to be eliminated by WHO in the year of 2020 using mass drug treatment in population with combination drugs of DEC 6 mg/kg body weight plus Albendazole 400 mg for 5 – 10 years. Diagnostic tool used in the program is microscopic examination of night blood samples however there are some constraints. Therefore, other diagnostic tools such as serological assay has to be used in monitoring the filariasis elimination program. Serological diagnosis using recombinant antigen *B. malayi* Bm14 has been developed to detect IgG4 antibody anti filaria. The purpose of this study is to determine the decrease of filariasis prevalence detected by two different diagnostic tools, microscopic examination for microfilariae and ELISA using Bm14 recombinant antigen for IgG4 antibody before and after mass treatment and the comparison between the two diagnostic tools in terms of sensitivity and specificity.

A longitudinal study is done in *B. timori* endemic area in Alor district, Nusa Tenggara Timur. Measurement of IgG4 anti filaria titer using ELISA-Bm14 is compared to microscopic examination to detect microfilariae in determining the infected persons. The decrease of IgG4 titer as well as microfilarial counts are also observed during 5 years mass treatment. A total of 51 sera samples was examined by microscopic and ELISA showing sensitivity is (94%) and negative predictive value is also high, 88% ( $p=0.000$ ). After intervention with mass treatment, the titer of IgG4 decreased significantly in Mf+ELISA+ (*True Positif*) group as well as Mf-ELISA+ (*False Positif*) group. The result indicates that serological method, ELISA-Bm14, can be used to determine the progress of the filariasis elimination program in Indonesia .

### Keywords:

Filariasis, *Brugia timori*, Mikrofilaria, IgG4, DEC -- Albendazol



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
<b>1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	4
<b>2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Program Eliminasi Filariasis Limfatik di Indonesia.....	5
2.2 Filariasis <i>Brugia timori</i> .....	7
2.2.1. Taksonomi.....	8
2.2.2. Morfologi.....	8
2.2.3. Siklus Hidup.....	8
2.3 Diagnosis Filariasis.....	10
2.3.1 Pemeriksaan Mikroskopis untuk mendeteksi Mikrofilaria.....	10
2.3.2 Pemeriksaan Diagnosis Molekuler.....	11
2.3.3 Pemeriksaan Deteksi Antigen.....	11
2.3.4 Pemeriksaan Deteksi Antibodi.....	12
2.4 Antigen Rekombinan Bm14.....	13
2.5 Immunologi Filariasis.....	15
2.6 Kombinasi DEC (diethylcarbamazine citrate) – ALB (albendazole) sebagai pengobatan massal filariasis limfatik.....	16
<b>3 METODE PENELITIAN.....</b>	<b>20</b>
3.1 Desain Penelitian.....	20
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	20
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....	21
3.4 Kriteria Inklusi.....	21
3.5 Besar Sampel.....	21
3.6 Alur Penelitian.....	22
3.7 Bahan dan Cara Kerja.....	22

<b>4</b>	<b>HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>27</b>
4.1	Karakteristik Subyek Penelitian.....	27
4.2	Hubungan ekspresi kadar IgG4 antifilaria pada subyek usia.....	28
4.3	Hasil deteksi IgG4 antifilaria dengan metode ELISA terhadap mikroskopik.....	30
4.4	Distribusi ekspresi IgG4 antifilaria pada kelompok status infeksi.....	31
4.5	Pola respon IgG4 antifilaria berdasarkan hasil ELISA terhadap mikroskopik pada kelompok status infeksi	32
<b>5</b>	<b>PEMBAHASAN.....</b>	<b>35</b>
<b>6</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>39</b>
	<b>DAFTAR REFERENSI .....</b>	<b>40</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>44</b>
	<b>RIWAYAT HIDUP.....</b>	<b>60</b>
	<b>KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK.....</b>	<b>62</b>
	<b>SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....</b>	<b>63</b>
	<b>DRAFT ARTIKEL.....</b>	<b>66</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Hasil ELISA terhadap respon antibodi IgG dengan menggunakan antigen rekombinan BmR1.....	12
Tabel 2.2	Sensitifitas dan Spesifisitas dari IgG4 ELISA untuk antigen rekombinan Bm14.....	14
Tabel 2.3	Sensitivitas dan Spesifisitas Pemeriksaan Antibodi.....	14
Tabel 4.1	Distribusi Infeksi filaria dengan pemeriksaan mikroskopik sebelum pengobatan berdasarkan jenis kelamin dan usia.....	27
Tabel 4.2	Hasil deteksi IgG4 anti filaria dengan metoda ELISA terhadap status infeksi filaria berdasarkan pemeriksaan mikroskopik.....	30
Tabel 4.3	Nilai uji diagnostik ELISA terhadap mikroskopik.....	31

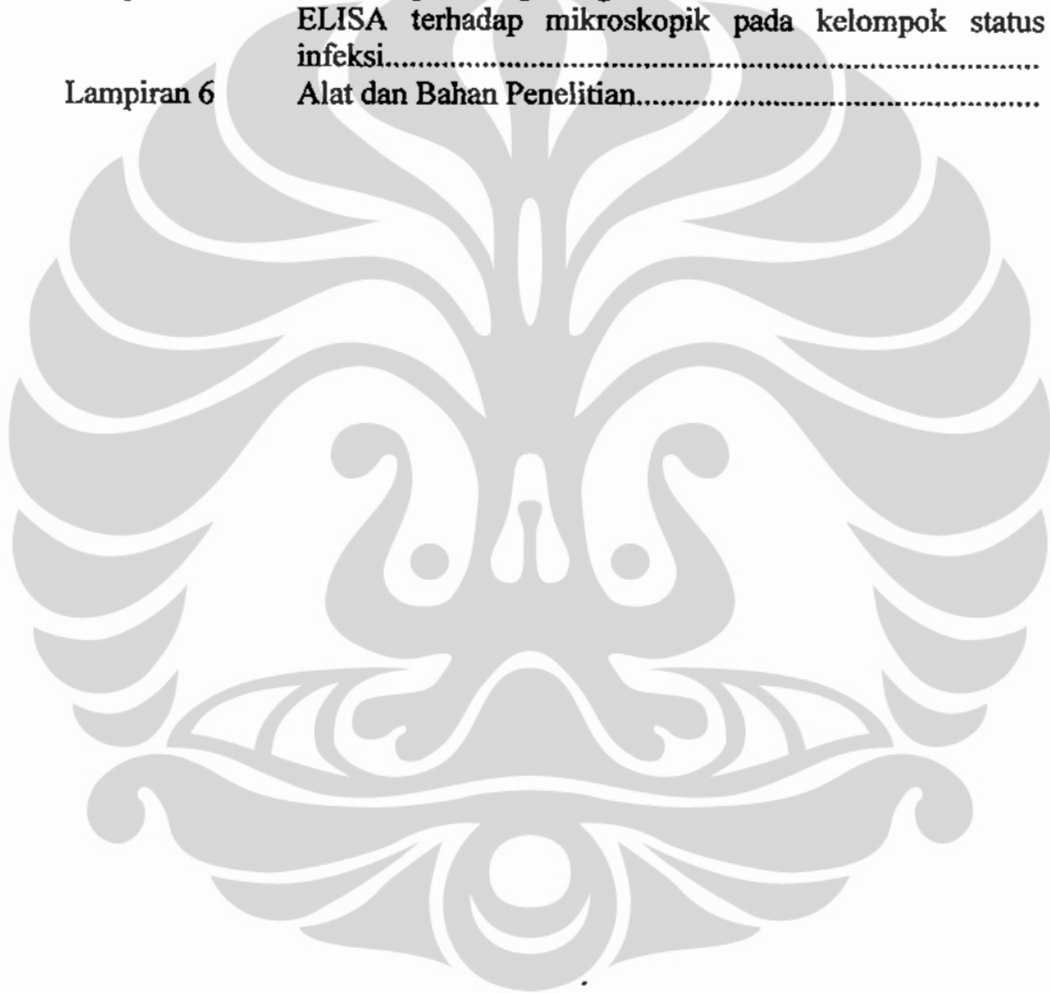


## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Peta Filariasis Limfatik.....	5
Gambar 2.2	Mikrofilaria <i>Wuchereria bancrofti</i> , <i>Brugia malayi</i> , <i>Brugia timori</i> .....	6
Gambar 2.3	Siklus Hidup Cacing Filaria.....	9
Gambar 2.4	Perkembangan mikrofilaria dalam nyamuk.....	10
Gambar 2.5	Skema ELISA dengan menggunakan kit Bm14 coated antigen	13
Gambar 2.6	Respon imunitas yang berbeda antara individu yang rentan, individu resisten, dan individu dengan gejala klinis.....	15
Gambar 2.7	Grafik perbandingan penurunan mikrofilaria, antigen, dan antibodi dengan pengobatan massal 5 tahun (dosis tunggal DEC dikombinasikan dengan ivermectin).....	18
Gambar 4.1	Perbandingan hasil pemeriksaan filaria secara mikroskopis dan ELISA IgG4 pada kelompok jenis kelamin dan usia.....	28
Gambar 4.2	Hubungan kadar IgG4 spesifik anti filaria Bm14 dengan usia	29
Gambar 4.3	Distribusi kadar anti filaria IgG4 pada masing-masing kelompok status infeksi setelah pemeriksaan mikroskopis dan ELISA.....	32
Gambar 4.4	Pola prevalensi mikrofilaria dan prevalensi IgG4 anti filaria pada sebelum, selama dan setelah pengobatan dilakukan.....	33
Gambar 4.5	Pola respon IgG4 anti filaria pada sebelum, selama dan setelah pengobatan dilakukan.....	33

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Analisa karakteristik Subyek Penelitian.....	44
Lampiran 2	Analisa hubungan ekspresi kadar IgG4 antifilaria pada subyek usia.....	47
Lampiran 3	Analisa hasil deteksi IgG4 antifilaria dengan metode ELISA terhadap mikroskopik.....	52
Lampiran 4	Analisa distribusi ekspresi IgG4 antifilaria pada kelompok status infeksi.....	53
Lampiran 5	Analisa pola respon IgG4 antifilaria berdasarkan hasil ELISA terhadap mikroskopik pada kelompok status infeksi.....	55
Lampiran 6	Alat dan Bahan Penelitian.....	59



## DAFTAR SINGKATAN

1. FL : *Filariasis Limfatik*
2. WHO : *World Health Organization*
3. GPELF : *Global Programme Elimination of Lymphatic Filariasis*
4. MDA : *Mass drug administration*
5. DEC : *Diethylcarbamazine Citrate*
6. ALB : *Albendazol*
7. Mf : *Mikrofilaria*
8. IgG : *Imunoglobulin G*
9. BmR1 : *Brugia malayi R1*
10. ELISA : *Enzyme-linked immunosorbent assay*
11. Bm14 : *Brugia malayi 14*
12. PCR : *Polymerase chain reaction*
13. TPE : *Tropical Pulmonary Eosinophilic*
14. cDNA : *DNA komplementer*
15. WbSXP : *Wuchereria bancrofti SXP*
16. Th : *T helper 2*
17. IL : *Interleukin*
18. IgE : *Imunoglobulin E*
19. Treg : *T regulasi*
20. CI : *Confidence interval*
21. SD : *Standar deviasi*

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar belakang

Filariasis limfatik (FL) adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi nematoda jaringan dan merupakan masalah kesehatan masyarakat dunia.<sup>1</sup> Diperkirakan lebih dari semilyar orang didunia beresiko dan 128 juta penduduk telah terinfeksi pada 80 negara.<sup>2,3</sup> Ada tiga spesies cacing filaria, yaitu *Wuchereria bancrofti* yang menginfeksi 115 juta orang di negara Afrika, India, dan daerah tropis lainnya serta daerah subtropis. *Brugia malayi* menginfeksi hampir 13 juta orang di India selatan, dan Asia Tenggara dan spesies yang terakhir *Brugia timori* menginfeksi penduduk yang tinggal di Indonesia Timur dan Timor-Leste.<sup>4</sup>

Filariasis ditargetkan untuk dieliminasi pada tahun 2020 oleh *World Health Organization* (WHO). WHO mendeklarasikan *Global Programme Elimination of Lymphatic Filariasis* (GPELF) yang mempunyai dua prinsip tujuan yaitu memutuskan transmisi dari infeksi penyakit filariasis limfatik dan mengurangi penderita serta mencegah kecacatan yang merupakan efek dari penyakit filariasis limfatik. GPELF merekomendasikan *Mass Drug Administration* (MDA) untuk filariasis bankrofti dan brugia dengan menggunakan dosis tunggal *Diethylcarbamazine Citrate* (DEC), 6 mg/kg berat badan, dikombinasikan dengan *Albendazol* (ALB), 400 mg, selama 4 – 6 tahun.<sup>5</sup> Program eliminasi filariasis dilakukan pada daerah endemis dengan prevalensi mikrofilaria (mf)  $\geq$  1%. Pemantauan program dilakukan dengan mengukur prevalensi dan densitas mikrofilaria setelah pengobatan massal. Apabila prevalensi mf < 1% dengan densitas mf < 10 mf/ml, tahap selanjutnya dilakukan uji diagnostik untuk mendapatkan sertifikat bebas filariasis menurut WHO.<sup>6</sup>

Teknik diagnostik yang telah sering dilakukan adalah pemeriksaan mikrofilaria dalam darah, namun teknik ini memiliki banyak kekurangan untuk diterapkan. Sensitivitas dari tes tergantung pada volume darah yang diperiksa, dan waktu pengambilan darah yang terbatas pada malam hari sehingga kurang praktis. Terakhir, deteksi mikrofilaria kurang sensitif pada pasien *cryptic infection* atau

pasien dengan jumlah densitas mf yang rendah<sup>7</sup>. Untuk memantau program pengobatan massal perlu dikembangkan metode diagnosis yang lebih efektif, yaitu dengan metode diagnostik secara serologi. Diagnosis serologi ini tidak terkendala oleh waktu pengambilan sampel darah. Sampel darah dapat diambil pada siang hari maupun malam hari.

Diagnostik filariasis secara serologi dapat dilakukan dengan deteksi adanya antigen filaria maupun antibodi terhadap filaria pada seseorang. Saat ini deteksi antigen hanya dapat dilakukan terhadap filariasis bancrofti, sedangkan pada infeksi filariasis brugia, diagnostik serologi dilakukan dengan mendeteksi adanya IgG4 anti filaria. Noordin et al (2004) mengembangkan deteksi IgG4 anti filaria untuk brugia, dengan menggunakan antigen rekombinan BmR1, sebab apabila menggunakan antigen utuh dari cacing filaria dapat menimbulkan reaksi silang dengan infeksi helminth yang lain.<sup>8,9</sup> Lammie et al (2004) melakukan studi perbandingan deteksi antibodi dengan menggunakan antigen rekombinan Bm14 dan Bm R1 untuk mendeteksi IgG4 spesifik dengan metode *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Hasil studi dilaporkan bahwa penggunaan antigen Bm14 memiliki sensitivitas 91% untuk *W. bancrofti*, dan 96% *B. malayi* sedangkan BmR1 memiliki sensitifitas 45% untuk *W. bancrofti* dan 100% untuk *B. malayi*.<sup>9</sup>

Penggunaan tes ELISA dengan antigen rekombinan BmR1 telah dilakukan untuk menentukan pada penduduk daerah endemik filariasis, Kepulauan Alor, NTT sebelum dan sesudah pengobatan massal DEC – Albendazole. Selain itu juga dilaporkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara densitas mf *B. timori* dengan level IgG4 antifilaria spesifik, dengan tes ELISA menggunakan antigen rekombinan BmR1. Dimana penurunan densitas mf diikuti dengan penurunan kadar IgG4 spesifik setelah pengobatan massal.<sup>6</sup>

Dengan mempertimbangkan adanya tiga spesies filaria di Indonesia (*W. bancrofti*, *B. malayi* dan *B. timori*) dan hasil spesifisitas dan sensitivitas tes serologi dengan antigen rekombinan Bm14 oleh Lammie et al, maka perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut untuk penggunaan deteksi antibodi IgG4 anti filaria sebagai alat pemantau keberhasilan program eliminasi filariasis di



Indonesia, sesuai dengan pedoman WHO yang mensyaratkan penggunaan deteksi serologi untuk mendapatkan sertifikasi bebas filariasis setelah MDA.

Kepulauan Alor, NTT, Indonesia merupakan daerah endemik filariasis *B. timori* dengan prevalensi mf berkisar dari 2 - 26%, sehingga daerah ini menjadi target program pemberantasan filariasis dengan pengobatan masal. Sampai saat ini Bm14 belum dipakai dalam memantau keberhasilan pengobatan masal filariasis *Brugia*. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kegunaan Bm14 untuk menilai penurunan densitas mf pada populasi akan diikuti dengan penurunan IgG4 anti filaria, dimana penurunan kedua parameter tersebut saling berkorelasi sesudah 5 tahun pengobatan masal DEC – Albendazole di Kepulauan Alor, NTT, Indonesia. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai masukan bahwa antigen rekombinan Bm14 dapat dipakai untuk menilai keberhasilan program eliminasi filariasis terutama di daerah dengan filariasis bankrofti dan filariasis *brugia*.

## **1.2. Rumusan masalah**

Sampai saat ini uji ELISA dengan antigen rekombinan Bm14 belum dievaluasi untuk memantau program eliminasi filariasis di daerah endemik *B. timori*. Demikian pula dengan penelitian pola penurunan respon imun IgG4 antifilaria pada penduduk yang tinggal di daerah endemik *B. timori* pasca pengobatan massal 5 tahun. Dan bagaimana pola penurunan prevalensi mf pada penduduk di daerah endemik tersebut dapat diikuti dengan pola penurunan IgG4 anti filaria setelah 5 tahun pengobatan massal.

## **1.3. Tujuan penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui hubungan antara penurunan prevalensi mikrofilaria yang diukur berdasarkan mikroskopis dengan penurunan respon IgG4 antifilaria berdasarkan uji ELISA dengan antigen rekombinan Bm14 sebelum dan sesudah pengobatan masal.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui penurunan prevalensi mf sebelum dan sesudah pengobatan dengan kombinasi DEC-Albendazol selama 5 tahun.
2. Mengetahui pola penurunan IgG4 antifilaria (hasil ELISA) sebelum dan sesudah pengobatan selama 5 tahun.
3. Mengetahui sensitivitas dan spesifisitas antigen rekombinan Bm14 sebagai alat diagnosis baru dan dalam memantau pengobatan masal filariasis selama periode 5 tahun.

### 1.4. Manfaat

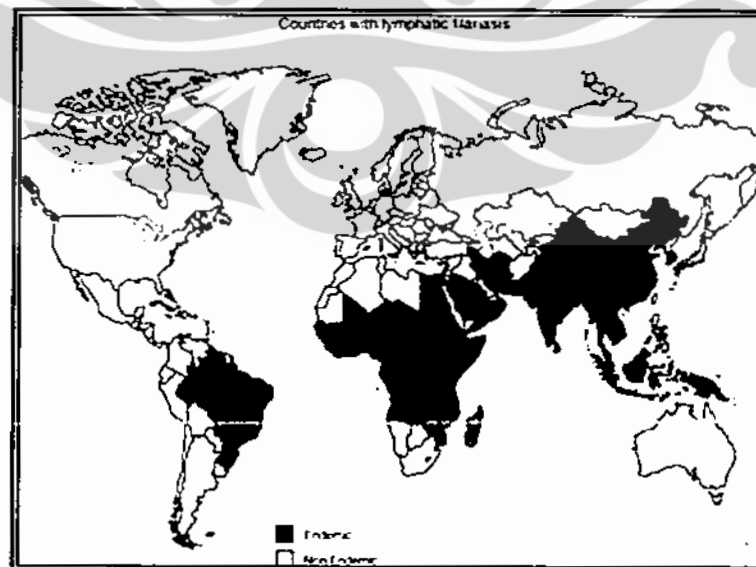
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat tentang penggunaan antigen rekombinan Bm14 dengan metode serologi sebagai alat diagnosis untuk memantau keberhasilan program pemberantasan filariasis di Indonesia.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Program Eliminasi Filariasis Limfatik di Indonesia

Filariasis limfatik adalah penyakit tular vektor (*vektor borne disease*) yang menimbulkan kecacatan dan ditargetkan oleh WHO untuk dieliminasi. Penyakit ini disebabkan oleh cacing filaria yang ditransmisikan ke tubuh manusia melalui gigitan nyamuk Culicini dan nyamuk Anophelini. Terdapat tiga spesies cacing filaria yang menginfeksi sistem limfatik manusia dan menyebabkan FL yaitu : *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, dan *Brugia timori*. Cacing filaria dewasa hidup dan berkembang biak di saluran dan kelenjar limfe. Adanya cacing dewasa menyebabkan terjadinya pelebaran pada pembuluh limfe, dan menyebabkan penyakit elephantiasis (penyakit kaki gajah). Cacing dewasa bersifat ovoviviparous, dan larvanya disebut mikrofilaria (mf).<sup>10,11,12</sup>

Filariasis limfatik, memberikan resiko infeksi lebih dari semiliyar orang pada 80 negara. Diperkirakan lebih dari 128 juta kasus filariasis limfatik, 91% disebabkan oleh spesies *W. bancrofti*, sedangkan *B. malayi* dan *B. timori* menginfeksi sisanya yaitu 9%. Asia Tenggara, Afrika, Pasific Barat, Mediterania Timur dan beberapa daerah di Amerika Tengah dan Amerika Selatan merupakan negara endemik filariasis limfatik.<sup>2</sup> (Gambar 2.1)



Gambar 2.1. Peta Filariasis Limfatik.<sup>13</sup>

Dengan adanya kampanye eliminasi filariasis global pada 1997, dunia siap untuk program eliminasi sebelum tahun 2020. WHO mendirikan GPELF yang mempunyai dua prinsip tujuan yaitu memutuskan transmisi dari infeksi penyakit filariasis dan mengurangi penderita dan mencegah kecacatan yang merupakan efek dari penyakit filariasis. Karena filariasis berdampak terutama pada masyarakat miskin, eliminasi penyakit ini akan sangat membantu peningkatan ekonomi bagi negara endemik filariasis.<sup>5</sup>

Dalam program global eliminasi filariasis, WHO telah melakukan pengobatan masal (MDA) setiap tahunnya. Pengobatan masal diberikan pada penduduk yang tinggal di daerah endemik dalam jangka waktu 4 – 6 tahun. Pemantauan terhadap pencapaian program perlu dilakukan setiap tahun dan secara terus-menerus untuk mengetahui sejauh mana keberhasilan pengobatan. Perkembangan yang begitu pesat dari pelaksanaan program eliminasi tersebut didukung oleh adanya bantuan obat-obatan dari berbagai negara dan WHO serta peran pemerintah di daerah-daerah endemik filariasis untuk meningkatkan kesehatan dan memerangi kemiskinan akibat penyakit tersebut.<sup>14</sup>



Gambar 2.2. Mikrofilaria *Wuchereria bancrofti*<sup>15</sup>, *Brugia malayi*<sup>16</sup>, *Brugia timori*<sup>17</sup>.

Di Indonesia, ketiga spesies cacing filaria ini terdistribusi secara luas ke seluruh kepulauan Indonesia dan menyebabkan 5 perbedaan tipe ekologi dari limfatik filariasis yang dapat diidentifikasi (Gambar 2.2) :

1. *Wuchereria bancrofti* Urban, endemic di Jakarta dan sekitarnya ditransmisikan oleh nyamuk *Culex quinquefasciatus*.

2. *Wuchereria bancrofti* Rural, endemik tinggi di Irian Jaya, dapat ditransmisikan oleh nyamuk vektor *Anopheles farauti* dan *Anopheles punctulatus*.
3. *Brugia malayi* antropophilic periodik nokturnal, endemik di Sulawesi dan ditransmisikan oleh *Anopheles barbirostris*.
4. *Brugia malayi* antropo-zoophilic dengan periodisitas yang bervariasi dan dapat ditransmisikan oleh berbagai vektor dari spesies nyamuk *Mansonia*.
5. *Brugia timori*, yang diidentifikasi sebagai spesies baru pada tahun 1966 oleh peneliti Indonesia, hanya ditemukan di Indonesia bagian timur. Spesies ini ditransmisikan oleh vektor *Anopheles barbirostris*.<sup>18</sup>

Menurut P2M & PLP (1999) prevalensi filariasis di Indonesia bervariasi antara 0,56 - 19,49% dengan rata-rata prevalensi 3,1%, dan pada tahun 2000 sebanyak 6154 orang penderita kronis filariasis ditemukan tersebar di 26 propinsi di seluruh Indonesia. Program eliminasi filariasis ditujukan pada daerah endemis dengan prevalensi mf  $\geq$  1%, diharapkan pengobatan massal menggunakan DEC - ALB sekali setahun, selama 4 - 6 tahun dapat memutuskan rantai penularan dengan menurunkan prevalensi mf menjadi  $<$  1%. Selain itu pemberian petunjuk penataan kasus klinis yang ditujukan untuk merawat penderita baik yang akut maupun yang kronis agar mencegah kecacatan dan mengurangi penderitaannya sehingga dapat meningkatkan kesejahteraan.<sup>19</sup>

Pemutusan rantai penularan dengan pengobatan massal dilaksanakan sesuai situasi dan kondisi setempat dengan mempertimbangkan berbagai faktor seperti lokasi, transportasi, sosial ekonomi, sosial budaya, mobilitas penduduk, dan lain -lain. Dengan demikian metode pemberantasan dapat berbeda - beda disetiap wilayah disesuaikan dengan hasil studi tentang faktor - faktor tersebut.<sup>19</sup>

## 2.2. Filariasis *Brugia timori*

Cacing filaria *B. timori* ditemukan di Indonesia bagian timur, di Pulau Timor, Flores, Rote, Alor, dan beberapa pulau kecil di Nusa Tenggara Timur. *B. timori* hanya terdapat di pedesaan karena vektornya, *An. barbirostris* tidak dapat berkembang biak di perkotaan. Tempat perindukan *An. barbirostris* adalah di persawahan dan hanya ada satu hospes definitif yaitu manusia.<sup>12</sup>

### 2.2.1. Taksonomi

Kingdom	: Animalia
Filum	: Nematelminthes
Kelas	: Secernentea
Ordo	: Spirurida
Super Famili	: Filariodea
Famili	: Onchocercidae
Genus	: Brugia
Spesies	: <i>Brugia timori</i> . <sup>11,20</sup>

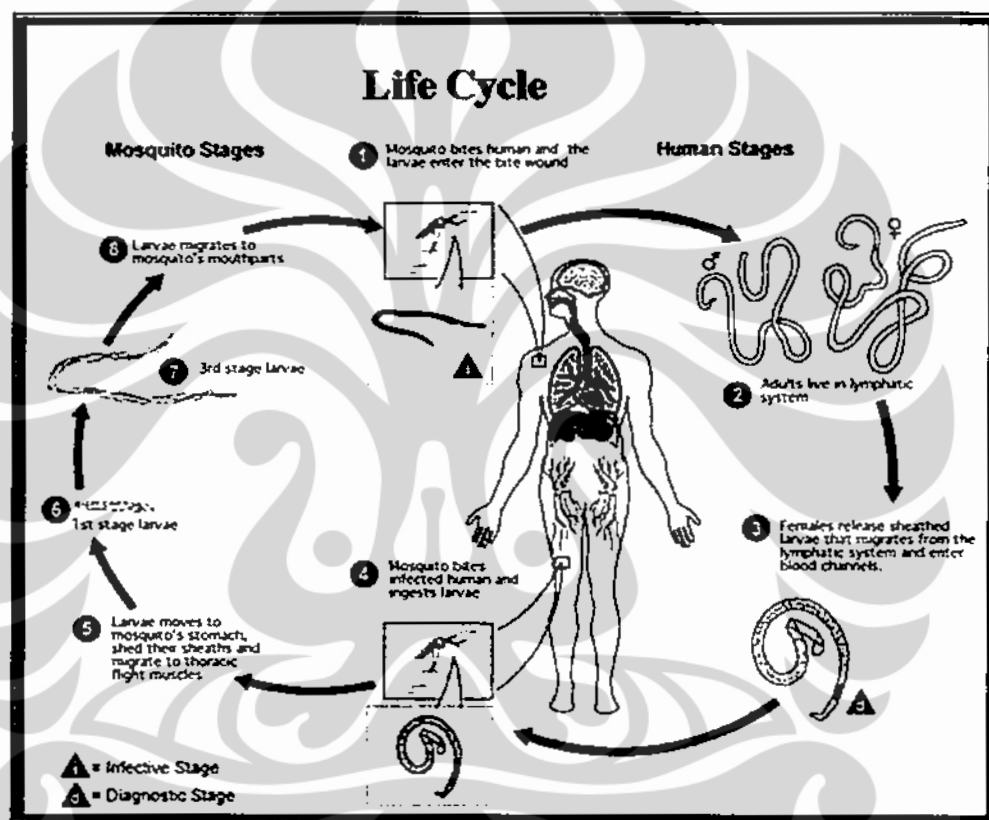
### 2.2.2. Morfologi

Cacing dewasa *B. timori* betina berukuran 21 - 39 mm x 0.1 mm dan cacing jantannya berukuran 13 - 23 x 0.08 mm. Bentuk cacing tersebut halus seperti benang dan berwarna putih susu. Cacing dewasa jantan dan betina kedua spesies ini hidup di pembuluh dan kelenjar limfe. Cacing betina mengeluarkan mf yang bersarung dengan bentuk mf yang mirip sekali dengan *B. malayi*. Namun ukuran panjang tubuh mf *B. timori* lebih panjang 3 kali dibandingkan *B. malayi*. *Cephalic space*nya berukuran 3 kali lebih lebar dari badannya. Dengan pewarnaan giemsa, *sheat B. timori* lebih pucat dibandingkan dengan *W. bancrofti* atau *B. malayi*.<sup>11,12</sup>

### 2.2.3. Siklus Hidup

Filariasis limfatik termasuk Filariasis *Brugia* mempunyai 2 hospes, yaitu hospes perantara (vektor) dimana ketika mf berkembang menjadi larva stadium infeksi di tubuh nyamuk dan hospes definitif, dimana larva infeksi berkembang menjadi cacing dewasa dan menghasilkan mf di tubuh manusia (hospes definitif). Infeksi pada hospes definitif dimulai dari larva infeksi (stadium 3) masuk ke kulit manusia melalui gigitan nyamuk yang infeksi. Larva masuk ke tubuh, berkembang menjadi larva stadium 4 kemudian bermigrasi ke saluran limfe, dan menetap di kelenjar limfe. Di kelenjar limfe, larva berkembang menjadi cacing dewasa. Lama perkembangannya kurang lebih 3 bulan. Setelah itu cacing jantan dan betina kawin, dan cacing betina menghasilkan mf (Gambar 2.3). Mf ini akan bermigrasi ke peredaran darah dan mampu hidup selama 1 tahun. Cacing dewasa dapat bertahan hidup dalam tubuh manusia sampai 10 tahun atau lebih. Adanya

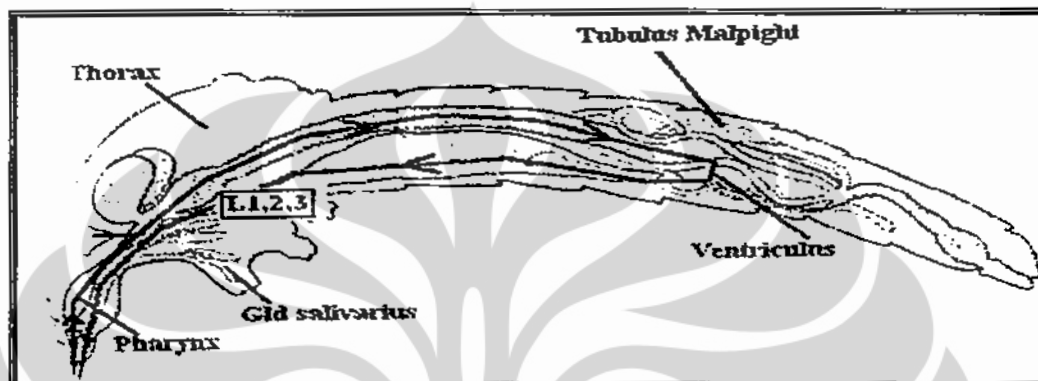
cacing dewasa betina dan mf mengakibatkan kerusakan pada saluran limfe, yang menimbulkan gejala klinis yaitu limfadenitis dan limfangitis. Pada filariasis Brugia, gejala klinis yang timbul sama dengan *W. bancrofti*. Perbedaannya infeksi Brugia tidak pernah mengenai sistem limfe alat kelamin. Pembengkakan elefantiasis yang terjadi hanya mengenai tungkai bawah (dibawah lutut) dan lengan bawah (dibawah siku). Alat kelamin dan payudara tidak pernah kena, kecuali infeksi bersamaan dengan *W. bancrofti*.<sup>10,12</sup>



Gambar 2.3. Siklus Hidup Cacing Filaria<sup>21</sup>

Mf yang dihasilkan oleh cacing dewasa akan berpindah ke peredaran darah tepi sesuai dengan periodisitasnya. Dan apabila mf yang terdapat di darah tepi terhisap oleh nyamuk akan segera mengalami perubahan bentuk. Pada fase pertumbuhan mf ditubuh nyamuk, pertama – tama mf akan masuk lambung nyamuk. Dari lambung nyamuk, mf akan berpenetrasi ke hemocele dan berkembang menjadi larva stadium 1, 2, dan 3 di thorax nyamuk. Dari thorax larva stadium 3 yang merupakan larva yang infeksi, akan berpenetrasi kemana – mana, termasuk ke proboscis nyamuk, dan apabila nyamuk menghisap darah

manusia, infeksi kembali terjadi. Masa inkubasi mf hingga menjadi larva stadium infeksi pada tubuh nyamuk vektor, kurang lebih 10 hari. Beberapa faktor yang mempengaruhi infeksi larva pada vektor adalah cuaca, predator, umur nyamuk yang pendek serta tidak semua mf berkembang menjadi larva stadium infeksi. Hal ini menyebabkan menurunnya prosentase infeksi.<sup>11,12</sup>(Gambar 2.4)



Gambar 2.4. Perkembangan mikrofilaria dalam nyamuk.<sup>11</sup>

### 2.3. Diagnosis Filariasis

#### 2.3.1. Pemeriksaan Mikroskopis untuk mendeteksi Mikrofilaria

Pada umumnya, diagnosis filariasis didapatkan dengan cara mendeteksi mikrofilaria dalam darah perifer. Pada area endemik filariasis dengan periodisitas nokturnal, pengambilan darah harus dilakukan pada malam hari (puncak periodisitas mikrofilaria pada pukul 20.00 – 24.00 WIB ) dengan menusukkan jari dengan lancet.<sup>10</sup> Darah diambil sebanyak 20 - 60  $\mu$ l, lalu dibuat sediaan darah. Ada dua macam sediaan darah untuk pemeriksaan mikroskopis yaitu: sediaan darah tebal dan sediaan darah filtrasi dengan pewarnaan giemsa. Kemudian keberadaan mikrofilaria dilihat di bawah mikroskop. Meskipun begitu, karena sedikitnya jumlah darah yang diperiksa, dan besarnya fluktuasi mikrofilaria di perifer, sensitivitas dari pemeriksaan ini rendah.<sup>18</sup>

Saat ini filtrasi dari satu ml darah vena biasa diaplikasikan sebagai standar dari teknik diagnostik dari mikroskopik terutama pasca pengobatan. Namun metode filtrasi masih memiliki banyak kekurangan, pertama, sensitivitas tidak optimal, pada infeksi kriptik (*steril atau single sex*) yang tidak terdapat mikrofilaria. Kedua, ketika dilakukan survei lapangan, waktu pengambilan



darah sering menimbulkan ketidaknyamanan pada partisipan. Ketiga, pengambilan darah vena membutuhkan tenaga yang terlatih serta ketelitian dari tenaga mikroskopis pada saat pemeriksaan dibawah mikroskop.<sup>18</sup>

### 2.3.2. Pemeriksaan Diagnosis Molekuler

Adanya parasit filaria dalam tubuh manusia dapat dideteksi melalui pemeriksaan DNA dengan menggunakan DNA probe spesifik pada pemeriksaan PCR (*Polymerase chain reaction*). Untuk kedua spesies, *W. bancrofti* dan *B. malayi/B. timori* spesifik primer telah didesain dengan sukses. Namun penelitian terakhir menunjukkan bahwa hasil yang positif hanya pada pasien dengan mikrofilaria. Diagnosis ini masih kurang sensitif untuk mendeteksi infeksi kriptik. Pemeriksaan ini mahal, membutuhkan peralatan laboratorium yang lengkap, serta teknisi yang terlatih dalam biologi molekuler.<sup>18</sup>

### 2.3.3. Pemeriksaan Deteksi Antigen

Cacing dewasa filaria merupakan organisme yang tinggal di jaringan, tidak mudah untuk melakukan pemeriksaan secara langsung terhadap cacing dewasa. sehingga perlu dikembangkan metode yang memungkinkan untuk mendeteksi sinyal parasit yang tertinggal di peredaran darah berupa antigen. Pemeriksaan pertama yang dikembangkan berupa penemuan antibodi monoklonal. Metode ini sangat baik untuk mendeteksi adanya antigen cacing *W. bancrofti* pada penderita infeksi kriptik. Selain itu metode ini juga dapat diterapkan pada penelitian studi kemoterapi. Yang hasilnya menunjukkan adanya penurunan sirkulasi level antigen setelah pengobatan dengan DEC.<sup>18</sup> Namun metode deteksi antigen menggunakan antibodi monoklonal yang spesifik belum dapat dikembangkan mendeteksi antigen filariasis *Brugia*, karena masih ditemukannya reaksi silang dengan beberapa spesies filariasis lain seperti *W. bancrofti*, *O. volvulus*, *Dirofilaria*, dan *Loa-loa*.<sup>9</sup>

### 2.3.4. Pemeriksaan Deteksi Antibodi

Diagnosis untuk filariasis limfatik dengan mendeteksi antibodi melalui IgG telah lama dikembangkan. IgG sendiri pada manusia terdiri dari 4 subklas yaitu IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 yang berbeda dalam struktur, fungsi, dan peranannya terhadap respon kompleks antigen.<sup>22</sup> Dalam kasus limfatik filariasis, respon antibodi IgG2 dan IgG3 meningkat lebih tinggi terjadi pada pada pasien

elefantiasis dibandingkan penderita mikrofilaremi.<sup>18</sup> Peningkatan yang tinggi terjadi pada antibodi spesifik IgG4 anti filaria hingga mencapai > 95% dari total IgG pada infeksi aktif (pasien mikrofilaremi maupun pasien *Tropical Pulmonary Eosinophilic* sindrom).<sup>23</sup> Selain itu kadar IgG4 antifilaria akan menurun setelah diberikan pengobatan masal.<sup>24</sup> Keberadaan IgG4 antifilaria yang mendominasi respon antibodi menjadikannya marker yang sensitif untuk filariasis.

Deteksi IgG4 antifilaria sangat tepat untuk digunakan dalam mendeteksi infeksi filariasis *Brugia*, karena tidak dapat dideteksi melalui antigen filaria. Deteksi IgG4 antifilaria *Brugia* dengan menggunakan ekstrak filaria utuh/*crude* memiliki reaksi silang terhadap antigen *W. bancrofti* dan nematoda lain seperti *Ascaris lumbricoides*, maka dikembangkan penggunaan antigen rekombinan.<sup>9</sup>

Terdapat beberapa macam antigen rekombinan yang telah dipublikasikan untuk deteksi filariasis yaitu : BmR1, Bm5, BmHSP-70, BmIF, dan Bm14. Masing – masing antigen rekombinan tersebut memiliki perbedaan sensitivitas dalam mendeteksi filariasis.<sup>25</sup> Pemeriksaan menggunakan Bm14 dilaporkan memiliki sensitivitas antara 85 – 90% dalam mendeteksi antibodi IgG4 antifilaria dari individu yang terinfeksi oleh *B. malayi*, *B. timori*, maupun *W. bancrofti*. Oleh karena itu, penggunaan antigen rekombinan Bm14 untuk deteksi IgG4 antifilaria dari ketiga spesies, lebih dapat diandalkan dibandingkan dengan antigen rekombinan lainnya.<sup>9,18</sup>

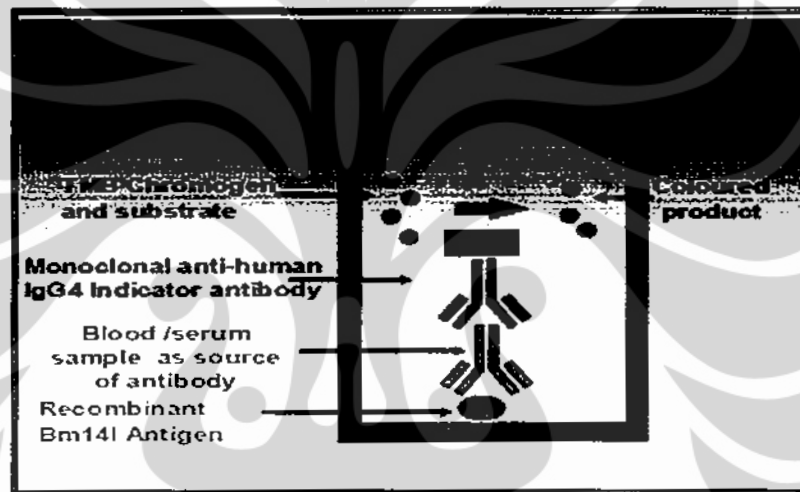
Tabel 2.1. Hasil ELISA terhadap respon antibodi IgG dengan menggunakan antigen rekombinan BmR1.<sup>23</sup>

Serum sampel	Jumlah	BmR1 positif (%)			
		IgG	IgG2	IgG3	IgG4
<i>B. malayi</i> , mf +	10	100	0	0	100
<i>B. malayi</i> , kronis	14	100	0	0	100
<i>W. bancrofti</i> , mf +	6	100	0	0	24,24
<i>O. volvulus</i> , mf +	47	100	0	0	1,43
<i>Loa loa</i> , mf +	14	100	0	0	42,86
<i>STH</i>	10	100	0	0	0
Kontrol	10	100	0	0	0

Dari hasil tabel diatas diketahui bahwa antigen rekombinan BmR1 kurang sensitif dalam mendeteksi filariasis bankrofti, sehingga dikembangkan antigen rekombinan Bm14 yang diduga memiliki sensitivitas yang tinggi dalam mendeteksi filariasis brugia dan filarisis bankrofti.

## 2.5. Antigen Rekombinan Bm14

Antigen rekombinan Bm14 dibuat dari klon cDNA cacing dewasa pada  $\lambda$ gt11. Panjang sekuen klon Bm14 adalah 1701 pb, terdiri dari 301 pb (Bm14 S) dan 1400 pb (Bm14 L). dan sekuens target yang dipakai untuk mengekspresikan antigen rekombinan Bm14 adalah Bm14 S.<sup>7</sup>



Gambar 2.5. Skema ELISA dengan menggunakan kit Bm14 coated antigen.<sup>26</sup>

Penelitian imunodiagnostik tentang antigen Bm14 dalam mendeteksi IgG4 anti filaria, pertama kali dilakukan dilakukan pada tahun 1994 oleh Chandrashekar et al.<sup>7</sup> Pada studi ini dicoba, mengkarakterisasi antigen rekombinan Bm14 spesifik filaria yang berpotensi menjadi imunodiagnostik pada filariasis. Sampel diambil dari pasien dengan filariasis brugia dari India, dan filariasis bancrofti dari India dan Mesir. Kemudian pengukuran dilakukan terhadap antibodi IgG4 antifilaria dengan metode ELISA. Serum kontrol didapatkan dari pasien yang terinfeksi *Schistosoma mansoni*, *Ascaris lumbricoides*, *Hymenopelis nana*, dan *Enterobius vermicularis*.

Tabel 2.2. Sensitifitas dan Spesifisitas dari IgG4 ELISA untuk antigen rekombinan Bm14.<sup>7</sup>

Sumber serum	Jumlah serum yang diuji	Jumlah serum yang reaktif dengan Bm14
Filariasis Bankrofti (India)	30	28
Filariasis Bankrofti (Mesir)	49	42
Filariasis Brugia (India)	32	27
<i>Ascaris lumbricoides</i>	10	0
<i>Schistocoma mansoni</i>	15	0
<i>Hymenoplepis nana</i>	4	0
<i>Enterobius vermicularis</i>	9	0

Hasil penelitian yang didapatkan adalah 90% dari serum pasien filariasis di India dan Mesir reaktif dengan antigen rekombinan Bm14. Sehingga Bm14 dapat berguna untuk alat diagnostik dalam mendeteksi infeksi filaria.

Lammie PJ et al (2004)<sup>9</sup> telah membandingkan tes serologi terhadap 3 macam antigen rekombinan yaitu Bm14, WbSXP dan BmR1 terhadap serum dari berbagai negara diantaranya dari Indonesia.<sup>9</sup> Penelitian ini mendemonstrasikan sensitivitas dari pemeriksaan antibodi oleh antigen rekombinan yang sedang dikembangkan pada 3 pemeriksaan yang berbeda yaitu ELISA, dipstik, dan *cassette*.

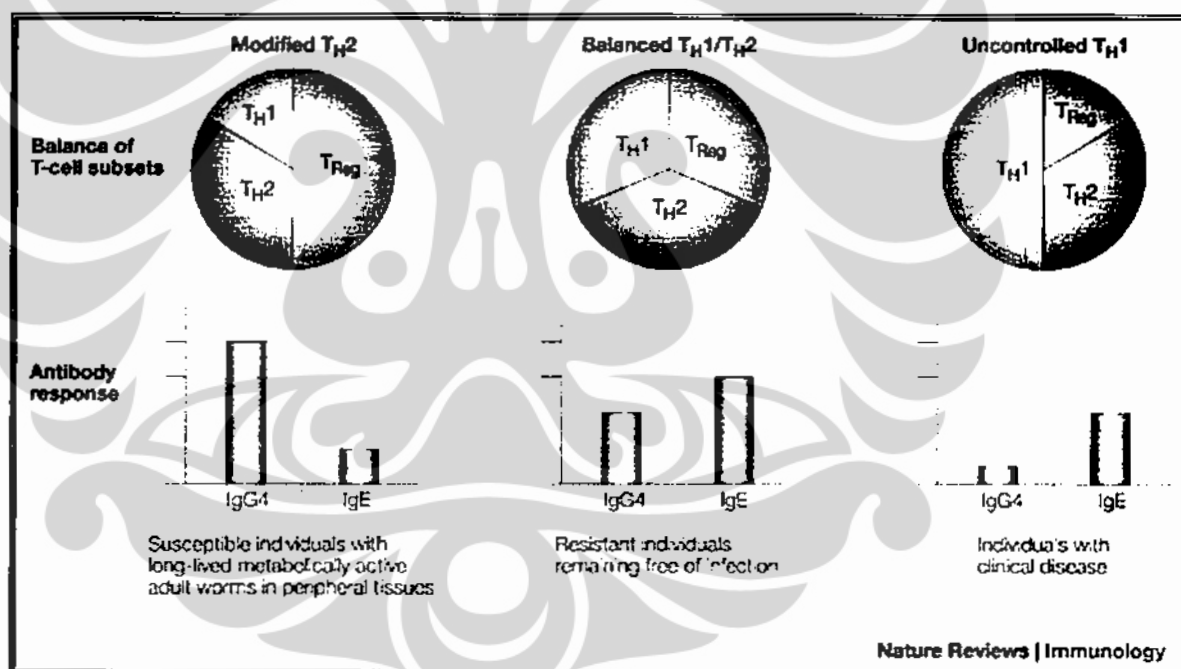
Tabel 2.3. Sensitivitas dan Spesifisitas Pemeriksaan Antibodi.<sup>9</sup>

Infeksi	Bm14 ELISA tes positif (%)	WbSXP cassette test positif (%)	BmR1 ELISA tes positif (%)	BmR1 dipstick tes positif (%)
<i>W. bancrofti</i>	91%	91%	45%	56.7%
<i>B. malayi</i>	96%	39%	100%	100%
<i>O. volvulus</i>	69%	60%	0	5%
<i>Loa-loa</i>	78%	43%	0	0
Nematoda lain ( <i>A. lumbricoides</i> )	0	0	0	0

Hasil penelitian dilaporkan bahwa antigen rekombinan Bm14 lebih sensitif dan spesifik dalam mendeteksi filariasis bankrofti dan filariasis Brugia, dibandingkan dengan antigen rekombinan yang lain.

## 2.6. Imunologi Filariasis

Pada infeksi cacing / filaria sel *T naive* lebih dominan berkembang kearah sel limfosit *T helper 2* ( $T_H2$ ) yang secara dominan menghasilkan sitokin IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 yang nantinya akan menginduksi proliferasi sel B, dan membentuk IgE dan IgG4.<sup>9,10</sup> Produksi IgG4 dan IgE saling berkaitan, dimana level IgE spesifik akan meningkat jika level antibodi spesifik IgG4 menurun, dan sebaliknya. Respon IgG4 akan meningkat apabila dirangsang oleh antigen dan berhubungan langsung dengan kadar antigen. Sedangkan IgE akan mengalami *down regulate* apabila pemaparan antigen semakin tinggi.<sup>27</sup>



Gambar 2.6. Respon imunitas yang berbeda antara individu yang rentan, individu resisten, dan individu dengan gejala klinis<sup>28</sup>

Pada daerah endemik filariasis terdapat tiga macam individu yang berbeda yaitu individu yang rentan adalah individu yang terlihat sehat namun sebenarnya sakit (*mikrofilaremi asimtomatik*), kemudian individu yang resisten yaitu individu yang tidak terinfeksi filariasis, dan yang terakhir adalah individu dengan

gejala klinis. Sehingga terdapat tiga pola respon imun spesifik yang berhubungan dengan infeksi filariasis limfatik di daerah endemis yaitu (Gambar 8)

1. Pada kelompok pertama yaitu *Modifikasi* T helper<sup>2</sup> merupakan kelompok individu yang rentan terhadap infeksi. Kelompok ini memiliki respon Th<sub>2</sub> yang lebih tinggi dibandingkan respon Th<sub>1</sub> dan mengekspresikan kadar IL-10 tinggi sebagai indikasi aktifitas T regulatori yang kuat. Profil antibodi pada kelompok Th<sub>2</sub> ini didominasi oleh antibodi IgG<sub>4</sub> dengan IgE yang relatif rendah. Kelompok ini sering tidak menunjukkan gejala klinis namun menjadi hospes reservoir dalam penularan infeksi filariasis.
2. Pada kelompok kedua yaitu kelompok yang resisten terhadap infeksi ditandai oleh adanya respon Th<sub>1</sub> dan Th<sub>2</sub> yang dikontrol oleh aktifitas Treg. Keadaan respon *Th<sub>1</sub> dan Th<sub>2</sub> yang seimbang* cukup penting untuk membunuh adanya infeksi cacing. Profil antibodi dalam keadaan ini digambarkan dengan antibodi IgG<sub>4</sub> yang rendah dan IgE yang meningkat.
3. Pada kelompok ketiga merupakan individu dengan gejala klinis yang menunjukkan respon *Th<sub>1</sub> yang tidak terkontrol*. Th<sub>1</sub> yang tinggi memicu respon inflamasi yang tidak terkontrol. Kelompok ini ditandai dengan kadar IgG<sub>4</sub> yang rendah dan IgE yang lebih tinggi, pada filariasis respon imun yang kuat ini berhubungan dengan inflamasi limfatik yang memicu terjadinya keadaan patologi seperti elefantiasis akibat adanya kegagalan fungsi aliran limfe. Kasus ini diduga berhubungan dengan rendahnya aktifitas T reg.<sup>28</sup>

## 2.6 Kombinasi DEC (diethylcarbamazine citrate) – ALB (albendazole) sebagai pengobatan massal filariasis limfatik.

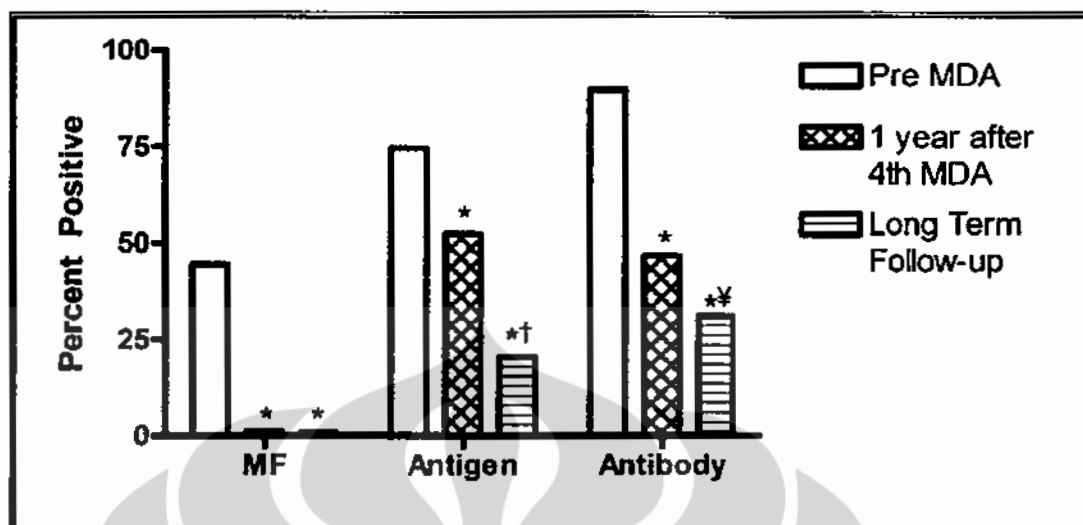
Terdapat dua strategi umum untuk mengurangi transmisi dari infeksi filaria. Pertama pengobatan yang diberikan kepada pasien filariasis untuk menurunkan mikrofilaria, kedua mencegah kontak manusia dengan vektor filariasis. Untuk strategi yang kedua membutuhkan banyak biaya dan sulit untuk diaplikasikan. Sehingga pengobatan yang efektif merupakan tujuan utama dalam mengontrol transmisi, dimana vaksin terus dikembangkan. Selama 50 tahun terakhir, DEC masih menjadi pilihan utama dalam pengobatan filariasis limfatik. DEC merupakan mikrofilarisidal yang efektif yang mendemonstrasikan penurunan

mikrofilaria yang sangat signifikan pada darah perifer setelah pengobatan. Selain itu juga merupakan makrofilariasidal jika diberikan pengobatan dalam jangka panjang.<sup>18</sup>

DEC dapat diabsorpsi dengan cepat dari saluran gastrointestinal dan mencapai puncaknya dalam darah setelah 1-2 jam setelah pemberian secara oral dengan dosis 50 mg. Waktu yang diperlukan oleh ginjal untuk mengekskresikan DEC adalah 10-12 jam waktu paruh DEC dalam darah, sejalan dengan perubahan pH urin.<sup>6</sup>

DEC bersifat mikro dan makrofilariasidal, dan pengobatan bertujuan untuk: mencegah kerusakan jaringan limfe lebih lanjut oleh aktifitas cacing dewasa, menekan transmisi parasit oleh vektor nyamuk, serta mengurangi gejala hematuria dan proteinuria. Pemberian DEC pada beberapa individu, menyebabkan terjadinya efek samping berupa reaksi lokal dan reaksi sistemik. Reaksi lokal pada tempat matinya cacing dewasa terjadi setelah 2-4 hari pasca pengobatan (rasa nyeri, adenitis, limfangitis retrograd, limfedema), dan reaksi secara sistemik oleh kematian mikrofilaria dengan gejala : demam, sakit kepala, mual, kantuk, malaise, anoreksia, mialgia, hematuria yang timbul setelah 48 jam atau 1-3 hari pasca pengobatan.<sup>6,10,12</sup>

Penelitian tentang respon IgG4 setelah pengobatan DEC dengan antigen rekombinan Bm14, telah dilakukan oleh Tisch DJ et al pada tahun 2008<sup>24</sup> Penelitian ini membandingkan prevalensi mikrofilaria, keberadaan antigen dan antibodi pada komunitas filarial yang telah diberikan pengobatan 5 tahun dengan dosis tunggal DEC dikombinasikan dengan ivermectin di Papua New Guinea. Pengukuran dilakukan sebelum pengobatan, 4 tahun sesudah pengobatan, dan 5 tahun sesudah pengobatan.



Gambar 2.7. Grafik perbandingan penurunan mikrofilaria, antigen, dan antibodi dengan pengobatan massal 5 tahun (dosis tunggal DEC dikombinasikan dengan ivermectin).<sup>24</sup>

Hasil yang menunjukkan bahwa dalam waktu 4 tahun setelah pengobatan mikrofilaria tidak lagi ditemukan dalam darah, dan terdapat hubungan yang kuat pada penurunan maksimum IgG4 antifilaria. Penurunan IgG4 berkelanjutan pada pengobatan 4 tahun, dan menurun lagi setelah 5 tahun pengobatan. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara penurunan mikrofilaria dengan IgG4 anti filaria, dimana kadar IgG4 antifilaria tinggi pada infeksi aktif (mikrofilaremik) dan mengalami penurunan setelah pengobatan massal.<sup>24</sup>

Pada pengobatan massal filariasis, obat yang digunakan adalah dosis tunggal DEC 6 mg/kg berat badan. Aplikasi terbaru untuk pengobatan massal adalah kombinasi obat DEC dengan Albendazole, selama 4 – 6 tahun.<sup>5,29</sup> Kedua obat ini ternyata lebih efektif 10% dibandingkan hasil pemberian satu macam obat saja. Dimana hasil observasi melaporkan bahwa penurunan mikrofilaria mencapai 98-99% pada populasi endemik, sedangkan dosis tunggal DEC hanya mampu menurun 90% prevalensi filariasis setelah satu tahun pemberian obat.<sup>30</sup> Selain itu penambahan Albendazole juga berperan dalam penurunan prevalensi cacing usus.<sup>4</sup>

Walaupun DEC bersifat mikrofilarisidal dan makrofilarisidal, ternyata lebih efektif untuk membunuh mikrofilaria. Hal ini ditunjukkan pada suatu penelitian in-vitro dimana penambahan DEC pada medium kultur tidak dapat membunuh cacing dewasa. Namun penelitian pada hewan percobaan menunjukkan bahwa pemberian DEC dapat membunuh cacing dewasa.



Sedangkan Albendazole lebih berperan sebagai makrofilariasidal. Oleh karena itu penurunan prevalensi akan lebih cepat pada pemberian kombinasi dua macam obat dibandingkan hanya dengan satu obat saja. Kombinasi kedua obat ini sangat tepat untuk keberhasilan program eliminasi filariasis limfatik.<sup>31,32</sup> Pengobatan diberikan pada semua penduduk yang berusia di atas dua tahun dan tidak sedang hamil atau sakit berat. Pengobatan masal filariasis dengan kombinasi dosis tunggal DEC – ALB sudah dilakukan di beberapa negara di dunia.



## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi longitudinal yang dilakukan di daerah endemik filariasis *B. timori* di Kabupaten Alor yang sedang melaksanakan pemberantasan filariasis secara masal. Pengobatan dilakukan menurut standar WHO dengan memberikan obat kombinasi DEC 6 mg/kg berat badan ditambah Albendazole 400 mg, yang diberikan 1 tahun sekali selama 5 tahun. Indikator keberhasilan pengobatan dianalisa dengan membandingkan status infeksi filaria berdasarkan pemeriksaan mikroskopik pada sediaan darah filtrasi dan pemeriksaan serologi pada sebelum, selama dan setelah pengobatan. Status infeksi filaria secara serologi dilakukan dengan mengukur adanya kadar IgG4 anti filaria menggunakan antigen rekombinan *B.malayi* Bm14 yang diperiksa dengan teknik ELISA.

Penelitian ini sudah mendapat persetujuan dari komisi etik Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

### 3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pada penelitian ini sampel diambil dari desa Mainang, Pulau Alor, Nusa Tenggara Timur yang ikut pada program pemberantasan filariasis. Daerah ini merupakan daerah endemis filariasis *B. timori*. Pemeriksaan secara mikroskopis pada sediaan darah filtrasi sebelum pengobatan ditemukan prevalensi mikrofilaria sebesar 26%.

Kegiatan penelitian dimulai dengan pemeriksaan darah untuk mengetahui status infeksi berdasarkan mikroskopi dan serologi sebelum pengobatan dilakukan mulai tahun 2002 dan berakhir pada tahun 2007 (setahun setelah pengobatan masal yang terakhir). Data prevalensi mf merupakan data sekunder dari Departemen Parasitologi FKUI. Uji ELISA dengan antigen rekombinan Bm14 akan dilakukan di laboratorium Filariasis, Departemen Parasitologi, FKUI.

### 3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh penduduk desa Mainang yang sedang dilakukan pengobatan masal filariasis. Sampel penelitian dipilih secara *Purposive sampling* terhadap individu yang tercatat memiliki catatan riwayat pengobatan lengkap (minum obat 1 kali setahun selama 5 tahun) dan sampel sediaan darah/serum lengkap (diambil setahun sekali pada sebelum, selama dan 1 tahun setelah pengobatan).

### 3.4. Kriteria inklusi

Subyek yang dapat dipilih dalam penelitian memnuhi kriteria inklusi sebagai berikut :

1. Subyek adalah penduduk yang tinggal di daerah penelitian dan menjadi partisipan dalam program pengobatan masal filaria.
2. Tercatat telah mengikuti prosedur minum obat yang benar dan lengkap (minum DEC 6 mg/kg berat badan ditambah Albendazole 400 mg, yang diberikan 1 tahun sekali selama 5 tahun)
3. Memiliki spesimen serum yang lengkap ( 1 kali diambil darah vena dalam satu tahun : sebelum, selama dan 1 tahun setelah pengobatan).
4. Subyek sehat dan mampu memberikan consent.

### 3.5. Besar Sampel

Besarnya sampel untuk dihitung dengan formula : Uji hipotesis 2 beda rerata.

$$N = \left\{ \frac{(Z\alpha + Z\beta) Sd}{d} \right\}^2$$

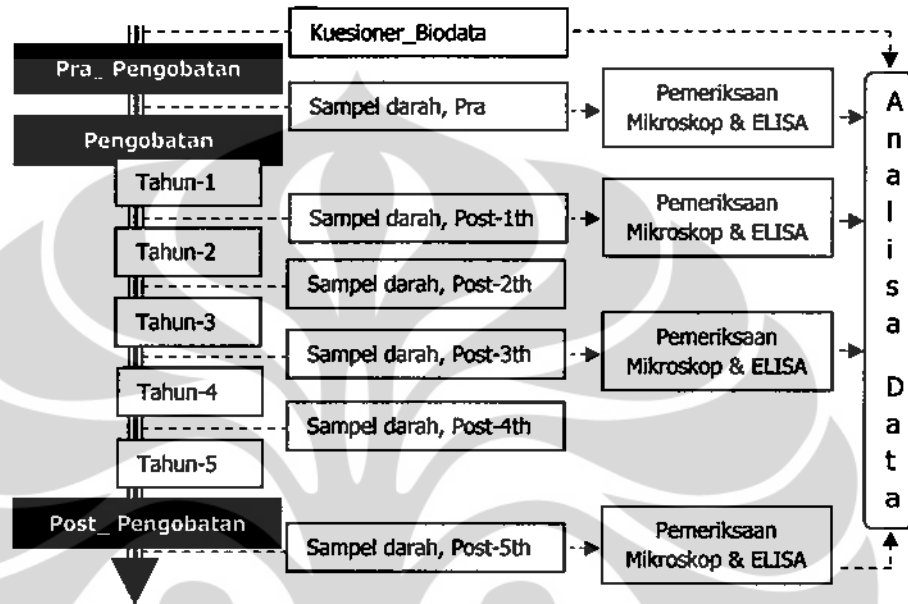
Keterangan :

- $Z\alpha$  = Kesalahan tipe 1 (1.96 (untuk interval kepercayaan 95%))
- $Z\beta$  = Kesalahan tipe 2 (0.842)
- $Sd$  = Simpangan baku dari rerata selisih
- $d$  = selisih beda rerata 2 kelompok

Dari perhitungan menggunakan rumus tersebut didapatkan jumlah sampel minimal sebesar 51 orang. Namun dalam pengumpulan sampel diperoleh

sample serum, untuk kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis, dan uji serologi ELISA IgG4 anti filaria.

### 3.6 Alur Penelitian



### 3.7. Bahan dan Cara Kerja

#### 3.7.1 Pemeriksaan mikroskopik pada sediaan darah filtrasi.

##### Alat & Bahan

1. Mikroskop
2. Kaca obyek
3. Pinset
4. Tabung endorff mengandung EDTA
5. Siring 3 ml dan 5 ml
6. Kapas alkohol
7. Membran Nukleopor (*nucleophore*), diameter 5 um
8. Holder
9. Metanol
10. Pewarna giemsa

### Cara kerja

- Sebanyak 1 cc darah yang diambil melalui vena pada malam hari, pindahkan pada tabung ependorf yang mengandung antikoagulan EDTA.
- Pasang bagian tabung siring 5 cc pada holder yang telah dipasang nucleophore, masukan 1 cc darah dari tabung ependorf, tekan siring untuk mewatkan darah pada membran nukleopor pada holder. Bilas dengan cara menyemprotkan air dengan siring melalui holder, pembilasan dilakukan 2 kali.
- Buka holder, ambil membran nukleopor dengan pinset dan diletakkan pada kaca slide, biarkan beberapa saat hingga kering.
- Membran *nukleopore* pada kaca slide ditetaskan metahanol untuk fiksasi, biarkan beberapa saat hingga kering.
- Teteskan larutan giemsa (1 tetes larutan giemsa : 14ml bufer ph7) hingga menutupi seluruh permukaan membran *nukleopore*, diamkan selama 15 menit.
- Diperiksa dibawah mikroskop (10x10) untuk menentukan ada atau tidaknya mf, perhitungan jumlah mf dilakukan pada sediaan yang positif.

### 3.7.2. Uji ELISA dengan rekombinan Bm14

#### Alat dan Bahan :

1. Kit Bm14 Antibody Limfatik Filariasis CELISA (KF3), terdiri dari :
  - ELISA plates coated dengan r-Bm14 antigen
  - PBS/Tween konsentrasi pencuci buffer
  - Pelarut sampel (10x) (FASD)
  - Pelarut conjugate (FACD)
  - Peroksidase Enzim Konjugate Monoclonal anti-human IgG4-HRP
  - Substrate buffer
  - TMB Substrate Chromogen
  - Stop solution
2. Aquades
3. Inkubator
4. Shaker

5. Pipet multichannel
6. Pipet dengan ukuran : 10 $\mu$ l, 50 – 200 $\mu$ l, 1ml
7. Multifit Pipet tips dengan ukuran 0,1 – 10  $\mu$ l, 10- 200  $\mu$ l, 1ml.
8. Gelas ukur dengan ukuran 10 ml, 500 ml, 800 ml
7. Tabung reaksi ukuran 500 ml, 1liter

#### **Cara Kerja :**

- Sebelum dilakukan pemeriksaan ELISA, semua komponen pemeriksaan (alat dan kit) ditaruh terlebih dahulu ditemperatur ruang, untuk hasil pemeriksaan yang lebih optimal.
- Lakukan pengenceran serum sampel 1:100 dengan pelarut sampel (sampel diluent yang telah diencerkan 10 kali).
- Masukkan 100  $\mu$ l sampel ke dalam masing – masing well dan diinkubasi selama 120 menit dalam 37°C.
- Kemudian larutan dibuang, dan dilakukan pencucian sebanyak 4 kali dengan PBS/Tween Wash Buffer concentrate.
- Masukkan larutan Peroxidase Enzyme Conjugate Monoclonal anti – human IgG4 HRP (yang sudah diencerkan 1:100 dengan conjugate diluent) sebanyak 100  $\mu$ l, pada masing – masing well lalu diinkubasi selama 45 menit pada 37°C.
- Kemudian larutan dibuang dan dilakukan pencucian kembali, sebanyak 4 kali.
- Masukkan larutan TMB substrate chromogen (yang telah diencerkan 1:20 dengan subsrate buffer) sebanyak 100 $\mu$ l pada masing – masing well.
- Tutup dengan strip dan letakkan dalam ruang gelap dengan temperature ruang. Dilakukan pengetukan dalam interval 5 menit selama 15 menit, untuk meningkatkan pewarnaan biru pada well.
- Masukkan 100  $\mu$ l larutan stopping solution pada masing – masing well dan dicampur perlahan. Penambahan stopping solution akan menurunkan reaksi well biru menjadi kuning.
- Hasil reaksi dibaca pada ELISA spectrophotometer (Dynatech, USA) dengan panjang gelombang 450nm. Hasil pengukuran dalam satuan

Optical Density (OD), dengan nilai ambang batas (cut off point) adalah 0.2. Sampel serum dengan nilai  $OD \geq 0.2$  dikelompokkan sebagai IgG4 positif, dan nilai  $OD < 0.2$  sebagai IgG4 negatif.

- Pada beberapa sampel plasma yang menunjukkan hasil ELISA dengan nilai OD tinggi sebelum pengobatan dan hasil IgG4 negatif ( $OD < 0.2$ ) setelah pengobatan pertama, kemudian positif kembali pada pengobatan selanjutnya, maka dilakukan ELISA ulang pada sampel serum tersebut.

### 3. 8. Pengolahan data dan analisis statistik

Pada pengolahan data dan analisis statistik digunakan program SPSS 15. Untuk mengetahui normalitas sebaran data pada masing-masing variabel dengan data kontinyu dilakukan uji *Kolmogorov\_Smirnov*. Jika ditemukan sebaran data yang tidak normal maka akan dilakukan transformasi log untuk menormalkan data. Akan tetapi bila sebaran data normal maka akan dilanjutkan dengan uji parametrik, dan bila tidak normal maka dilakukan uji non parametrik.

Uji beda rerata kadar IgG4 anti filaria sebelum pengobatan antara kelompok positif dan negatif filaria dilakukan uji *t-unrelated*, jika data tidak berdistribusi normal dilakukan uji *Mann\_Whitney*. Uji beda rerata kadar IgG4 anti filaria sebelum dan sesudah pengobatan dilakukan uji *t-related*, jika data tidak berdistribusi normal dilakukan uji *Wilcoxon*.

Untuk mengetahui kemampuan teknik ELISA dalam mendiagnosis filaria yang ditetapkan secara mikroskopis (pada sediaan filtrasi) sebagai gold standard, dilakukan uji diagnostik yang akan diolah menggunakan software *CAT\_Maker*. Besarnya perbedaan proporsi positif/negatif hasil pemeriksaan ELISA terhadap proporsi positif/negatif hasil pemeriksaan mikroskopik dilakukan uji *Mc Nemar*. Uji diagnostik dilakukan terhadap data status infeksi sebelum pengobatan.

Untuk melakukan uji diagnostik, data positif dan negatif hasil pemeriksaan Mikroskopik dan ELISA IgG4 anti filaria akan di tabulasi dan dihitung dengan formula sebagai berikut :

		Mikroskopis	
		Present	Absent
ELISA IgG4	Postive	a	B
	Negative	c	D

Keterangan :

Sensitivity	:	$a/a+c$
Specificity	:	$d/b+d$
Pretest Probability (prevalence)	:	$(a+c)/(a+b+c+d)$
Positive Predictive Value (PPV/NDP)	:	$a/(a+b)$
Negative Predictive Value (NPV/NDN)	:	$d/(d+c)$
Likelihood Ratio +	:	$\text{sensitivity}/(1-\text{specitivity})$
Likelihood Ratio -	:	$(1-\text{sensitivity})/\text{specitivity}$



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### 4.1. Karakteristik Subyek Penelitian

Studi longitudinal penelitian ini dilakukan di daerah endemik Filariasis *B. timori* di wilayah kabupaten Alor yang dipilih berdasarkan hasil survei filariasis yang dilakukan Divisi Helminologi, Departemen Parasitologi, FKUI. Selanjutnya bersama dengan P2M, Depkes daerah ini dialokasikan untuk uji coba program pemberantasan filariasis dengan pengobatan masal kombinasi DEC 6 mg/kg berat badan dan Albendazole 400 mg setahun sekali selama 5 tahun. Pengobatan diberikan kepada seluruh penduduk kecuali ibu hamil serta anak di bawah 2 tahun. Untuk memantau keberhasilan program perlu dipilih *sentinel site*, yaitu daerah dengan prevalensi mf paling tinggi. Desa Mainang merupakan *daerah sentinel site*. Pemantauan dilakukan dengan memeriksa darah dari 500 orang penduduk.

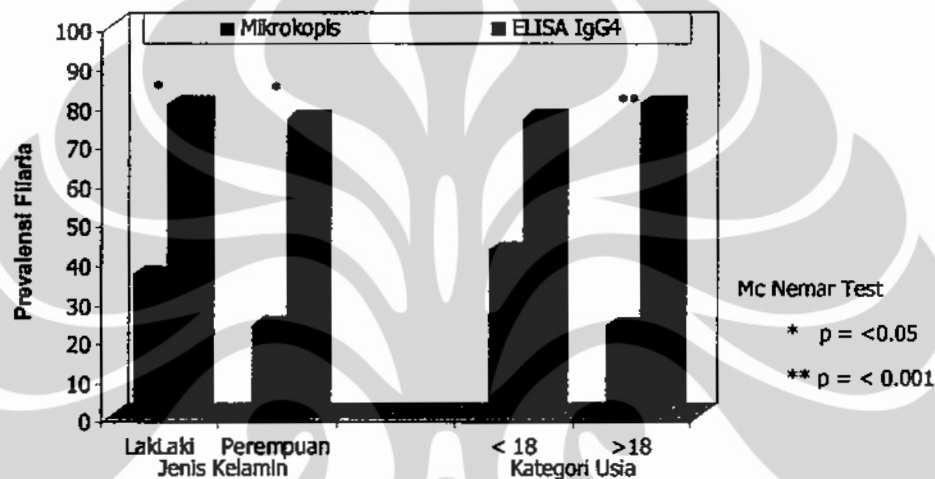
Pada penelitian ini telah dipilih 51 sampel darah individu yang ikut skrining awal 2002 dan lengkap mengikuti 5x MDA hingga tahun 2007. Status infeksi pada 51 sampel diperiksa secara mikroskopis pada sediaan darah filtrasi. Penentuan kadar IgG4 antifilaria secara kuantitatif dengan uji ELISA terhadap antigen rekombinan Bm14 pada setiap sampel hanya pada sampel sebelum pengobatan (2002), satu tahun setelah pengobatan pertama, pengobatan ketiga dan satu tahun setelah pengobatan kelima.

Karakteristik dari 51 subyek yang masuk dalam kriteria inklusi penelitian ini tertera pada Tabel 4.1

Tabel 4.1. Distribusi Infeksi filaria dengan pemeriksaan mikroskopik sebelum pengobatan berdasarkan jenis kelamin dan usia.

Status	Jumlah diperiksa	Jumlah Positif (%)	Chi Square Test (p)
Jumlah subyek	51 orang		
- Laki-laki	30 orang	11 (36,7%)	0.330
- Perempuan	21 orang	5 (23,8%)	
Usia (tahun)			
- <18	21 orang	9 (42,9%)	0.057
- >18	30 orang	7 (23,3%)	

Hasil analisa menggambarkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna status infeksi antara laki – laki dan perempuan ( $X^2$  test = 0.330) dan pada usia  $\leq 18$  tahun dan  $> 18$  tahun ( $X^2$  test = 0.057 ). Nilai rerata densitas mf pada laki-laki Mean  $702 \pm 807$ , sedangkan pada perempuan  $528 \pm 636$ , tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Dan nilai rerata densitas mf pada usia  $\leq 18$  adalah  $438 \pm 507$  dan pada usia  $> 18$  tahun adalah  $1108 \pm 1014$  juga tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.



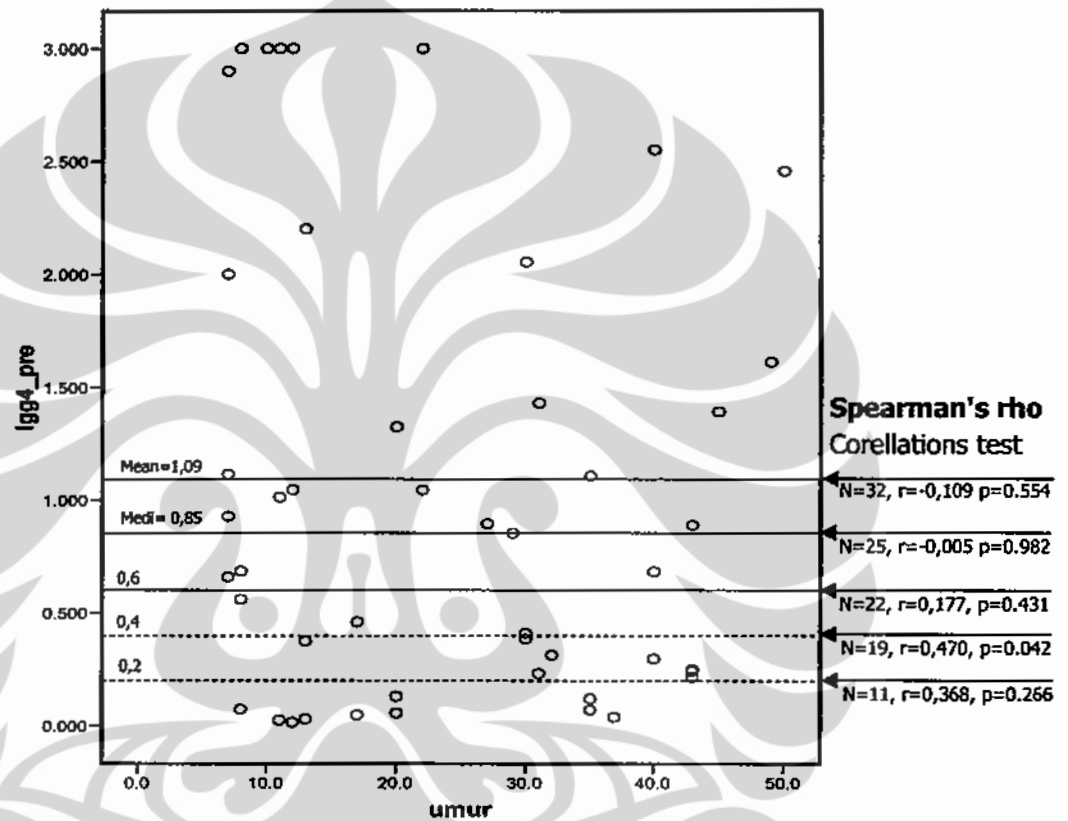
Gambar 4.1. Perbandingan hasil pemeriksaan filaria secara mikroskopis dan ELISA IgG4 pada kelompok jenis kelamin dan usia.

Status infeksi filaria berdasarkan pemeriksaan IgG4 meningkat baik pada kelompok berdasarkan jenis kelamin maupun usia, seperti tertera pada gambar 4.1. Pada kelompok kategori jenis kelamin terdapat korelasi yang kuat antara uji diagnostik secara mikroskopik dan deteksi IgG4 antifilaria, dimana IgG4 positif meningkat seiring dengan mf positif. Pada kelompok kategori usia, mf positif pada usia  $> 18$  tahun lebih rendah daripada usia  $< 18$  tahun tetapi perbedaan ini tidak berbeda bermakna ( $p = 0.057$ ), sedangkan IgG4 positif lebih tinggi pada usia  $> 18$  tahun dibandingkan dengan usia  $\leq 18$  tahun.

#### 4.2. Hubungan ekspresi kadar IgG4 antifilaria pada subyek usia

Seluruh subyek dalam penelitian ini merupakan penduduk asli dan lahir di daerah penelitian, umur subyek sekaligus menggambarkan lamanya subyek tinggal di daerah endemik yang berisiko untuk terinfeksi. Untuk melihat pengaruh

lamanya paparan infeksi terhadap ekspresi kadar IgG4 anti filaria .dilakukan analisa korelasi antara usia dengan ekspresi IgG4 antifilaria. Untuk melihat apakah hubungan umur dengan kadar IgG4 dipengaruhi oleh tinginya kadar IgG4 anti filaria pada seseorang maka analisa korelasi dilakukan pada semua kasus dan pada beberapa titik potong kadar IgG4 anti filaria : 0,2; 0,4; 0,6; 0,85 (median) dan 1,09 (means) gambar 4.2.



Gambar 4.2. Hubungan kadar IgG4 spesifik anti filaria Bm14 dengan usia.

Hasil analisis korelasi usia dan kadar IgG4 pada semua kasus, tidak menunjukkan korelasi yang bermakna ( $N=52$ ,  $r= -0.087$ ,  $p= 0.544$ ). Sedangkan hasil analisis usia dengan kadar IgG4 pada subyek-subyek yang kadar IgG4 anti filaria pada titik potong  $\leq 0,4$  terdapat korelasi bermakna yang berarti kenaikan IgG4 antifilaria yang meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Analisa korelasi umur dengan kadar IgG4 pada titik potong diatas kadar 0,4 maupun dibawah 0,2 tidak menunjukkan adanya korelasi.yang bermakna (gambar 4.2).

### 4.3 Hasil deteksi IgG4 antifilaria dengan metode ELISA terhadap mikroskopik.

Hasil pemeriksaan status infeksi filaria berdasarkan IgG4 yang diukur secara ELISA menunjukkan proporsi infeksi yang signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopik. Hasil pemeriksaan IgG4 berdasarkan ELISA di kategorikan positif setelah dihitung berdasarkan nilai *cut of point* sebesar 0.2. Hasil uji diagnostik antara deteksi IgG4 anti filaria dengan metoda ELISA dengan status infeksi filaria dengan menemukan mikrofilaria secara mikroskopik berdasarkan teknik filtrasi tertera pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil deteksi IgG4 anti filaria dengan metoda ELISA terhadap status infeksi filaria berdasarkan pemeriksaan mikroskopik.

Mikroskopik ELISA IgG4	Positif	Negatif	Total
	(%)	(%)	(%)
Positif (%)	15 (34,9)	28 (65,1)	43 (84,3)
Negatif (%)	1(12,5)	7(87,5)	8 (15,7)
Total	16 (31,4)	35 (68,6)	51 (100)

Mc. Nemar test,  $p = 0,00$

Kappa, = - 0,036

Hasil uji diagnostik ELISA terhadap mikroskopik sebelum pengobatan didapatkan 4 karakteristik kelompok sebagai berikut :

1. Kelompok mikroskopik positif dan ELISA IgG4 anti filaria positif (*True positive=TP*) sebanyak 15 kasus.
2. Kelompok mikroskopik negatif dan ELISA IgG4 anti filaria positif (*False positif=FP*) sebanyak 28 kasus.
3. Kelompok mikroskopik positif dan ELISA IgG4 anti filaria negatif (*False Negatif=FN*) sebanyak 1 kasus.
4. Kelompok mikroskopik negatif dan ELISA IgG4 anti filaria negatif (*True negative=TN*) sebanyak 7 kasus.

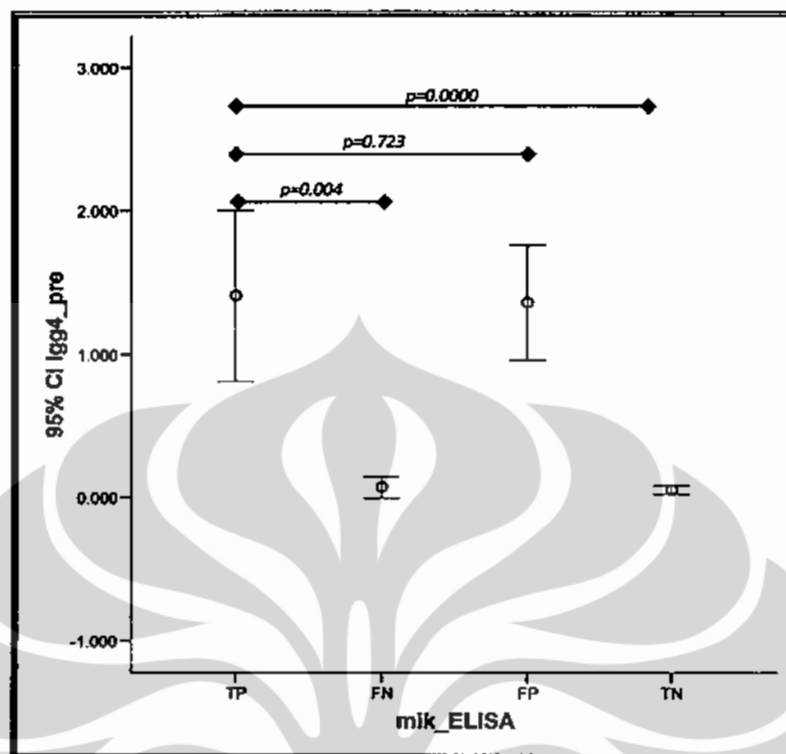
Tabel 4.3. Nilai uji diagnostik ELISA terhadap mikroskopik.

Nilai Uji Diagnostik	Persentase	95% Confident interval
Sensitivitas	94%	82 % - 100 %
Spesivitas	20 %	7 % - 33 %
Pretest Probability	31 %	19 % - 44 %
Nilai duga positif	35 %	21 % - 49 %
Nilai duga negatif	88 %	65 % - 100 %

Hasil analisis menunjukkan bahwa sensitivitas metode ELISA terhadap mikroskopik sebesar 94% menyatakan teknik diagnostik tersebut mampu mendeteksi sebesar 94% proporsi subyek yang sakit (terinfeksi) dengan hasil uji positif benar. Sedangkan spesifisitasnya 20% menyatakan bahwa tehnik diagnostik tersebut mampu mendeteksi 20 % proporsi subyek yang sehat (tidak terinfeksi) dengan hasil uji negatif benar. Nilai duga positif (NDP) yang menyatakan probabilitas subyek terinfeksi apabila nilai uji diagnostiknya positif adalah 35%, dan nilai duga negatif (NDN) yang menyatakan probabilitas subyek tidak terinfeksi bila hasil ujinya negatif adalah 88%.

#### 4.4. Distribusi ekspresi IgG4 antifilaria pada kelompok status infeksi

Distribusi ekspresi anti filaria IgG4 pada masing-masing kelompok status infeksi setelah dilakukan pemeriksaan mikroskopik dan ELISA tertera pada gambar 4.3.



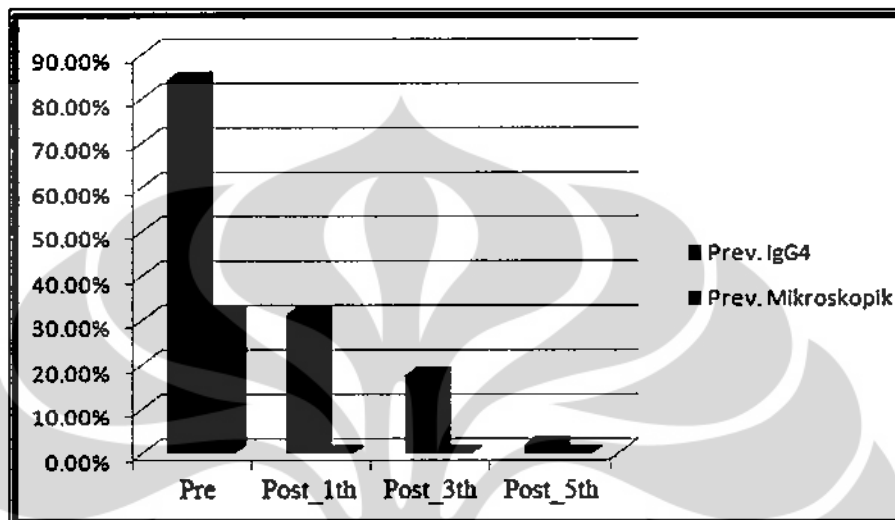
Gambar 4.3. Distribusi kadar anti filaria IgG4 pada masing-masing kelompok status infeksi setelah pemeriksaan mikroskopik dan ELISA

Hasil analisis statistik pada kelompok Mf+ELISA+ (TP) dengan Mf+ELISA- (FN) menunjukkan adanya perbedaan bermakna ( $p=0,004$ ), demikian pula pada kelompok Mf+ELISA+ (TP) dengan Mf-ELISA- (TN) ( $p=0,000$ ). Sedangkan antara kelompok Mf+ELISA+ (TP) dengan Mf-ELISA+ (FP) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,723$ ) pada hasil ELISANYA. Dari ekspresi IgG4 antifilaria tersebut, hasil ekspresi IgG4 antifilaria tertinggi terdapat pada kelompok Mf+ELISA+ (TP), sedangkan yang ekspresi IgG4 antifilaria terendah pada kelompok Mf-ELISA- (TN).

#### 4.5. Hubungan Pengobatan dengan Pola respon IgG4 antifilaria berdasarkan hasil ELISA

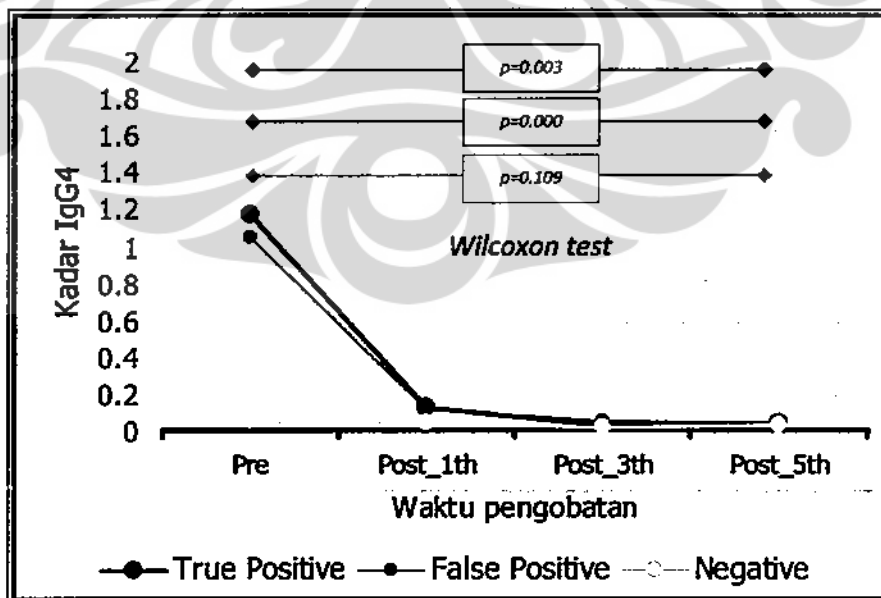
Dampak pengobatan masal yang diberikan selama lima tahun terhadap kadar IgG4 tampak pada gambar 4.4. dan 4.5. Pada gambar 4.4 menunjukkan prevalensi mf dan IgG4 antifilaria pada kelompok positif yang mengalami penurunan setelah diberikan pengobatan masal. Dan pada gambar 4.5 dilakukan analisis dengan membandingkan pada 3 kelompok status infeksi pada

pra\_pengobatan: *True positif, False Positif & Negatif*. Grafik gambar 4.5 pada kelompok *false positif* juga dilakukan untuk menilai status infeksi berdasarkan pola respon IgG4 anti filaria pada sebelum, selama dan setelah pengobatan dilakukan.



Gambar 4.4. Pola prevalensi mikrofilaria dan prevalensi IgG4 anti filaria pada sebelum, selama dan setelah pengobatan dilakukan.

Pada Gambar 4.4 menunjukkan bahwa pada pemeriksaan mikroskopik, prevalensi mf mengalami penurunan sampai 0% pada pengobatan MDA pertama, pada kelompok positif. Penurunan prevalensi mf diikuti dengan penurunan prevalensi IgG4 antifilaria dari MDA pertama sampai MDA kelima.



Gambar 4.5. Pola respon IgG4 anti filaria pada sebelum, selama dan setelah pengobatan dilakukan.

Pada gambar 4.5 menggambarkan pola respon IgG4 pada ketiga kelompok uji. Hasil analisa statistik pada kelompok  $Mf+ELISA+$  (TP) sebelum MDA mengalami penurunan kadar IgG4 antiphilaria dengan nilai rerata (mean  $1.312 \pm SD 0.972$ ) menjadi  $0.03 \pm 0.034$  pada MDA5. Penurunan ini berbeda bermakna dengan  $p=0,003$ . Pada MDA5 dari 15 individu yang diperiksa sampelnya, terdapat 1 individu dengan kadar IgG4 antiphilaria  $> 0,2$  dan 14 individu lainnya  $< 0,2$ .

Hasil analisa statistik pada kelompok  $Mf-ELISA+$  (FP) juga mengalami penurunan kadar IgG4 antiphilaria yang berbeda bermakna ( $p=0,000$ ). Dari 28 individu nilai rerata kadar IgG4 antiphilaria pada sebelum MDA  $1.361 \pm 1.029$  menjadi  $0.054 \pm 0.058$  pada sesudah MDA5. Sedangkan pada kelompok negatif penurunan kadar IgG4 antiphilaria dari sebelum pengobatan ( $0,05 \pm 0,03$ ) menjadi ( $0,04 + 0,0$ ) setelah pengobatan yang secara statistik tidak bermakna ( $p=0,109$ ).





## BAB IV PEMBAHASAN

Desa Mainang di kepulauan Alor, Nusa Tenggara Timur merupakan salah satu daerah endemik filariasis *B. timori* dengan prevalensi pada populasi mencapai 26% sehingga daerah tersebut dipilih sebagai daerah model untuk program eliminasi filariasis di Indonesia.

Area penelitian sebagian besar merupakan persawahan dan ladang dan lebih dari 95% mata pencaharian kepala keluarga sebagai petani dengan keadaan sosioekonomi yang rendah serta hampir semua bangunan rumah tidak memiliki sistim perlindungan gigitan nyamuk (pemasangan kasa atau kelambu).

Prevalensi mf yang diperiksa secara mikroskopik pada subyek penelitian sebelum pengobatan dilakukan menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antara laki-laki dan perempuan, demikian pula terhadap kelompok anak-anak dan dewasa. Hal ini menunjukkan bahwa semua kelompok subyek penelitian memiliki resiko infeksi filariasis yang sama. Vektor filariasis *B. timori* di daerah penelitian adalah nyamuk *An. barbirostris*, spesies nyamuk ini mempunyai tempat perindukan di sawah dan mempunyai kebiasaan menggigit *indoor dan outdoor* sehingga baik pada laki-laki dan perempuan maupun pada kelompok usia anak dan dewasa mempunyai peluang tergigit/tertular vektor filariasis yang sama<sup>55</sup>. Keadaan ini akan berbeda jika dibandingkan dengan daerah endemik filaria dengan vektor *Mansonia* di Sumatera dan Kalimantan yang memiliki aktivitas menggigitnya *outdoor* seperti dikebun, prevalensi mf biasanya tinggi pada kelompok laki-laki usia dewasa (pekerja).

Untuk melihat pengaruh lamanya paparan infeksi selama subyek tinggal di daerah endemik dalam hal ini diwakili oleh variabel umur (karena subyek lahir dan tinggal di daerah penelitian) terhadap profil kadar IgG4 antifilaria dilakukan analisis korelasi antara usia dengan ekspresi IgG4 antifilaria, hasil analisis menunjukkan bahwa hubungan umur dengan kadar IgG4 dipengaruhi oleh keadaan tinggi rendahnya kadar IgG4 seseorang. Pada subyek yang memiliki OD IgG4 anti filaria diatas 0,4, meningkatnya usia tidak diikuti oleh kenaikan kadar IgG4 anti filaria, sebaliknya pada kelompok kadar IgG4 antifilaria rendah (OD <

0.4) semakin meningkatnya usia secara signifikan diikuti oleh meningkatnya kadar IgG4 anti filaria. Hal ini dikarenakan bahwa kadar IgG4 antifilaria dalam tubuh dalam keadaan *plateau*, sehingga bertambahnya usia (yang berarti paparan infeksi semakin lama) tidak menyebabkan kenaikan kadar IgG4 anti filaria. Penelitian yang dilakukan Terhell et.al<sup>34</sup>, menyatakan bahwa pada daerah endemis yang terus terpapar infeksi filaria, terdapat IgG4 antifilaria terus meningkat seiring dengan bertambahnya usia, dan peningkatan kadar IgG4 mencapai keadaan *plateau* pada usia lebih dari 30 tahun. Hal ini tidak sesuai dengan hasil penelitian, dimana keadaan *plateau* pada kadar IgG4 tidak ditentukan dengan batasan usia, tetapi ditentukan dengan produksi IgG4 antifilaria didalam tubuh.

Untuk mengetahui status infeksi, diperlukan uji diagnostik secara mikroskopis sebagai baku emas dan deteksi IgG4 (ELISA) sebagai uji alternatif. Pengembangan deteksi antibodi ini bertujuan untuk keperluan skrining pada pemetaan area endemik filariasis, pasca pengobatan masal untuk menentukan status keberhasilan pengobatan masal filariasis di daerah endemik. Evaluasi secara serologi ini akan menentukan apakah program pengobatan akan dilanjutkan (diperpanjang) atau tidak, serta untuk diagnosis alternatif karena adanya kendala penggunaan darah malam dan kurang sensitif pemeriksaan mikroskop pada penderita infeksi kriptik.

Hasil uji diagnostik sebelum MDA menunjukkan nilai sensitivitas uji ELISA yang tinggi yaitu 94% namun spesifisitas yang rendah yaitu 20 %. Nilai sensitivitas yang tinggi pada uji ELISA menunjukkan korelasi kuat dengan uji mikroskopik dalam mendeteksi positif. Namun tingginya kemampuan uji ELISA mendeteksi positif pada sampel menyebabkan nilai spesifisitas yang rendah, dikarenakan banyak individu yang negatif mikroskopik tetapi terdeteksi positif dengan uji ELISA (false positif). Hasil uji menunjukkan dari 35 individu yang terdeteksi negatif mf hanya 7 individu yang terdeteksi negatif dengan uji ELISA. Nilai duga negatif pada uji ELISA terhadap mikroskop juga cukup tinggi yaitu 88%, hal ini menunjukkan bahwa antigen Bm14 cukup baik untuk mendeteksi evaluasi pengobatan masal. Peningkatan kemampuan deteksi mikroskopik oleh deteksi serologis (ELISA) menyebabkan false positif juga ditemukan pada deteksi antigen dengan ICT pada filariasis bancrofti. Penggunaan ICT pada deteksi

antigen filariasis bancrofti diketahui dapat meningkatkan kemampuan deteksi filariasis sebesar 5-20% .<sup>35</sup>

Seperti infeksi cacing pada umumnya, paparan antigen cacing filaria yang masuk dalam tubuh hospes akan mengaktivasi sel Th2 yang akan menghasilkan beberapa sitokin diantaranya IL4 dan IL5. IL4 akan mengaktivasi sel B untuk memproduksi IgE. Pada infeksi kronis antigen cacing akan mengaktivasi sel T regulator (Treg) yang sebagian besar memproduksi IL10 yang bersifat antiinflamasi. IL10 akan mempengaruhi sel B untuk memproduksi IgG4. Dalam populasi ditemukan terdapat beberapa kasus infeksi kronik tetapi tidak diikuti oleh aktivasi dari Treg. Individu ini ditandai dengan adanya kadar IgE yang tetap tinggi tetapi kadar IgG4 yang rendah.<sup>29</sup> Diduga adanya satu individu yang hasil pemeriksaan mikroskopnya positif tetapi IgG4 anti filaria rendah dan terdeteksi negatif dengan uji ELISA memiliki aktivitas Treg yang rendah.

Kombinasi dari DEC dan ALB efektif membunuh parasit dan menurunkan densitas mf, hal ini terbukti dengan terjadinya penurunan prevalensi mf sampai 0% sejak tahun pertama sesudah pengobatan. Hal ini sesuai dengan teori Bockarie et al<sup>36</sup>, yang menyatakan bahwa kombinasi DEC –ALB dapat menurunkan prevalensi mf hanya pada satu tahun pengobatan. Menghilangnya mikrofilaria sejak tahun pertama diikuti oleh penurunan kadar IgG4 anti filaria yang signifikan. Sejak satu tahun setelah pengobatan kadar IgG4 anti filaria pada kelompok terinfeksi filaria (Kelompok *True positive*) menurun hingga kadar IgG4 anti filaria tidak berbeda bermakna dibandingkan kelompok negatif. Hal yang sama terjadi pada kelompok *False positive*. Menurunnya kadar IgG4 antifilaria pada kelompok *False positive* mengindikasikan adanya infeksi filariasis karena kadar IgG4 kelompok false positive ini menurun sebagai respon adanya pengobatan yang menurunkan parasit cacing filaria ataupun antigen yang tidak ditemukan secara mikroskopis. Hingga tahun ke-5 setelah pengobatan kadar IgG4 antifilaria baik kelompok true positive dan false negative berada pada OD <2 dan tidak berbeda bermakna dengan kelompok negatif. Sedangkan pada kelompok negatif (OD IgG4 antifilaria <0.2) tidak ada perubahan yang bermakna antara sebelum hingga sesudah 5 tahun pengobatan.

Pola penurunan IgG4 antipilaria yang bermakna setelah diberikan pengobatan masal DEC-Albendazole pada kelompok *False positive* mengindikasikan adanya infeksi aktif dan sebaliknya keadaan ini menunjukkan kelemahan uji mikroskop dalam mendeteksi infeksi aktif. Terdapat beberapa kemungkinan teknik mikroskopik gagal dalam mendiagnositik kasus filarasis diantaranya : kasus infeksi kriptik yang ditandai dengan densitas mf sangat rendah, adanya cacing dewasa yang infertil atau infeksi tunggal (*single sex*), atau infeksi larva stadium 3 yang belum berkembang menjadi cacing dewasa, sehingga mf tidak terdeteksi dalam darah.<sup>18</sup> Hasil ini membuktikan bahwa diagnosis filaria berdasarkan respon IgG4 antipilaria terhadap antigen Bm 14 yang diukur secara ELISA lebih mampu mendeteksi adanya infeksi aktif filarasis tiga kali lipat lebih baik dibandingkan tehnik mikroskopik.

Pengobatan dengan kombinasi DEC-Albendazole sangat efektif untuk penyembuhan infeksi filarasis. Efektifitas DEC sebagai mikrofilarisidal dan makrofilarisidal berhubungan dengan adanya kerjasama berbagai komponen, seperti *arachidonic acid pathway*, respon imun alami hospes serta aktivitas dari *nitric oxide*<sup>36</sup>. Begitu pula dengan albendazol berperan sebagai makrofilarisidal yang merupakan inhibitor dari reaksi polymerase dari tubulin parasite di dalam mikrotubul. Penghambatan ini mengakibatkan berkurangnya pembentukan adenosin tri phospat (ATP) di tubuh parasit, sehingga lama kelamaan parasit akan mati.<sup>13</sup>

Akhirnya diharapkan uji diagnostik serologi dengan menggunakan antigen rekombinan Bm14 dapat digunakan untuk menentukan kapan diakhirinya pengobatan masal yang menandakan keberhasilan program pemberantasan filarasis di Indonesia. Selain itu antigen rekombinan Bm14 dalam format ELISA perlu diubah dalam bentuk dipstick/kit yang dapat digunakan untuk alat diagnosis filarial agar dalam menegakkan diagnosis menjadi lebih mudah dan efisien.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. KESIMPULAN

6.1.1 Pola penurunan repon IgG4 antifilaria setelah pengobatan berkorelasi dengan hilangnya mf dalam darah, menunjukkan bahwa diagnosis IgG4 antifilaria menggunakan antigen rekombinan Bm14 dapat digunakan sebagai prosedur evaluasi keberhasilan pengobatan filariasis.

6.1.2. Ekspresi IgG4 antifilaria pada kelompok yang terinfeksi menunjukkan pola penurunan respon yang bermakna setelah diberikan pengobatan dengan DEC-Albendazole dosis tunggal selama 5 tahun pengobatan masal.

6.1.3. Hasil uji diagnostik menunjukkan bahwa uji serologi ELISA dengan antigen rekombinan Bm14 memiliki sensitifitas dan nilai duga negatif yang tinggi dalam mendeteksi infeksi filariasis di daerah endemik tinggi infeksi *Brugia timori*.

#### 6.2. SARAN

6.2.1. Uji serologi dengan antigen rekombinan Bm14 merupakan alat diagnostik baru yang direkomendasikan untuk dipakai dalam evaluasi keberhasilan program pemberantasan filariasis di Indonesia.

6.2.2. Antigen rekombinan Bm14 digunakan untuk alat diagnosis *Brugia* Rapid (BR) agar menegakkan diagnosis menjadi lebih mudah dan efisien.

6.2.3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang evaluasi program pengobatan masal di Indonesia secara kuantitatif.

## DAFTAR REFERENSI

- <sup>1</sup> Pani SP, Reddy GS, Das LK, Vanamail P, Hoti SL, Ramesh J, Das PK. Tolerability and efficacy of single dose albendazole, diethylcarbamazine citrate (DEC) or co-administration of albendazole with DEC in the clearance of *Wuchereria bancrofti* in asymptomatic microfilaraemic volunteers in pondicherry, South India: a hospital-based study. *Filaria journal*; 2002.
- <sup>2</sup> Scott AL. Lymphatic-dwelling filariae. In: Nutman TB, Pasvol G, Hoffman SL. Editor. *Lymphatic Filariasis*. Volume 1. London: Imperial College Press; 2000.p.
- <sup>3</sup> World Health Organization. *Lymphatic Filariasis: Reason for Hope*. WHO. 1998: 1; 3-5.
- <sup>4</sup> Oqueka T, Supali T, Ismid IS, Purnomo, Ruckert P, Bradley M, Fischer P. Impact of two rounds of mass drug administration using diethylcarbamazine combined with albendazole on the prevalence of *Brugia timori* and of intestinal helminthes on Alor Island, Indonesia. *Filaria Journal*; 2005.
- <sup>5</sup> Ottesen EA, Editorial: The global programme to eliminate lymphatic filariasis. *Tropical Medicine and International Health*. 2000; 5; 591 – 94.
- <sup>6</sup> Nasution SF. Pola penurunan anti – filarial IgG4 pada penduduk yang tinggal didaerah endemic filariasis *B.timori* setelah pengobatan masal DEC-ALB. Tesis. 2007.
- <sup>7</sup> Chandrashekar R, Curtis KC, Ramzy RM, Liftis F, Li BW, Weil GJ. Molecular cloning of *Brugia malayi* antigens for diagnosis of lymphatic filariasis. *Molecular and Biochemistry Parasitology*. 1994;64(2):261-71.
- <sup>8</sup> Noordin R, Wahyuni S, Mangali A, Huat LB, Yazdanbakhsh M, et al. Comparison of IgG4 assay using whole parasite extract and BmR1 recombinant antigen in determining antibody prevalence in brugian filariasis. *Filaria Journal*.2004; 3(8): 1-6.
- <sup>9</sup> Lammie PJ, Weil G, Noordin R, Kaliraj P, Steel C, et al. Recombinant antigen-based antibody assays for the diagnosis and surveillance of lymphatic filariasis – a multicenter trial. *Filaria journal*. 2004; 3(9): 1-5.
- <sup>10</sup> Despommier DD, Gwadz RW, Hotez PJ, Charles A, Knirsch. Lymphatic filariae: *Wuchereria bancrofti*. In: Miller LH, editors. *Parasitic diseases*. 4<sup>nd</sup> ed. New York: Apple Trees Production, LLC; 2000.p.132-37.
- <sup>11</sup> Sandjaja B. *Helminthologi kedokteran*. Edisi 1. Jakarta: Prestasi Pustaka Jakarta; 2007.

- <sup>12</sup> Kurniawan A, Partono F. Nematoda jaringan. Dalam: Gandahusada S, Ilahude HHD, Pribadi W, editor. Parasitologi kedokteran. Edisi 3. Jakarta: FKUI; 2000.p.35-40.
- <sup>13</sup> Albendazole. Available from URL: <http://www.stanford.edu/class/humbio103/Parasits2005/Albendazole/index.htm#Structure>. 02 Januari 2008.
- <sup>14</sup> "Parasite and health : Filariasis". Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern. DPDx. 25 Februari 2009. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Filariasis.htm>
- <sup>15</sup> "*Wuchereria bancrofti*". Biologi.de. 02 Januari 2008. <http://www.biologie.de/biowiki/Fadenw%C3%BCrmer>.
- <sup>16</sup> "*Brugia malayi*". Wikipedia. 02 Januari 2008. [http://en.wikipedia.org/wiki/Brugia\\_malayi](http://en.wikipedia.org/wiki/Brugia_malayi).
- <sup>17</sup> "*Brugia timori* : a filarial human from Indonesia". Filarial Biology and Pathology. 02 Januari 2008 <http://www.nematodes.org/fgn/pnb/brugtim.html>.
- <sup>18</sup> Terhell A, Epidemiological facets of lymphatic filariasis as revealed by use of antifilarial IgG4. Disertasi. 2002:10-35.
- <sup>19</sup> DepKes RI. Eliminasi penyakit kaki gajah (filariasis) di Indonesia. Buku 1. Jakarta : Direktorat Jendral Pemberantasan Penyakit Menular & Penyehatan Lingkungan. 2001.
- <sup>20</sup> Schmidt GD, Roberts L, and Janovy J.Jr. Foundation of Parasitology. Seventh Edition. New York : Mc Graw Hill . 2005.
- <sup>21</sup> "Parasit Image Library". Laboratory Identification of Parasit of Public Health Concern. 19 Oktober 2007. [http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Filariasis\\_il.asp?body=AF/Filariasis/body\\_Filariasis\\_il17.htm](http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Filariasis_il.asp?body=AF/Filariasis/body_Filariasis_il17.htm).
- <sup>22</sup> Simonsen PE and Meyrowitsch DW. Bancroftian filariasis in Tanzania : Specific antibody responses in relation to long term observations on microfilaremia. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1998;59(5):667-72.
- <sup>23</sup> Ottesen EA, et al. Prominence of IgG4 in the IgG antibody response to human filariasis. Immunology Journal. 1985;134(4) : 2707-12.

- <sup>24</sup> Tisch DJ, Bockarie MJ, Dimber Z, Kiniboro B, Tarongka N, et al. Mass drug administration trial to eliminate lymphatic filariasis in Papua New Guinea: changes in microfilaremia, filarial antigen, and Bm14 antibody after cessation. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2008, 78(2):289-93.
- <sup>25</sup> Fischer P., et al. Detection of filariae-specific IgG4 antibodies and filarial DNA, for the screening of blood spots for *Brugia timori*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 2005;99(1): 53-60.
- <sup>26</sup> Rajasekariah GH, Dogcio D, Smiththyman AM. Development of prototype ELISA and RDT sentinel assay for monitoring exposure to lymphatic filarial infection. *Cellabs*.
- <sup>27</sup> Terhel A, Stolk W, Haarbrink M, Mangali A, Oortmarsen GV et al. Regulation of antifilarial IgE by infection pressure. In : Terhell A, Epidemiological facets of lymphatic filariasis as revealed by use of antifilarial IgG4. *Disertasi*. 2002:108 - 9.
- <sup>28</sup> Wibowo, H. Pengaruh infeksi cacing pada ibu hamil terhadap profil imun hospes yang divaksinasi tetanus toxoid; suatu kajian respon imun pada ibu hamil dan bayi yang dilahirkan. *Disertasi*. 2008;11-31.
- <sup>29</sup> Ottesen EA, Ismail MM, Horton J. The role of albendazole in programmes to eliminate lymphatic filariasis. *Parasitol Today*. 1999: 15; 382-86.
- <sup>30</sup> Burkot T, and Ichimori K. The PacELF programme: will mass drug administration be enough?. *Parasitology*. 2002: 18; 109 - 15.
- <sup>31</sup> Shanmugavelu S. Albendazole for mass drug administration to eliminate lymphatic filariasis. *Vector Control Research Centre*. India.
- <sup>32</sup> "Limfatik di Indonesia Farmacia". *Filariasis*. 06 Januari 2008 <http://www.majalah-farmacia.com>.
- <sup>33</sup> Terhel A, Haarbrink M, Abadi K, Syafruddin, Maizel R, et al. Adults acquire filarial infection more rapidly than children : a study in Indonesian transmigran. In: Terhell A, Epidemiological facets of lymphatic filariasis as revealed by use of antifilarial IgG4. *Disertasi*. 2002:70-80.
- <sup>34</sup> Haarbrink M, Terhel A, Stolk W, Abadi K, Asri et al. Antifilarial IgG4 in men and women living in *Brugia malayi* - endemic area. In : Terhell A, Epidemiological facets of lymphatic filariasis as revealed by use of antifilarial IgG4. *Disertasi*. 2002:136-50.
- <sup>35</sup> Dreyer G, Lins R, Noroes J, Rizzo JA, et al. Sensitivity of the immunochromatographic card test relative to detection of adult *Wuchereria bancrofti* worms by ultrasound. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2008, 78(1):28-34.



---

<sup>36</sup> Bockarie MJ, Taylor MJ, Gyapong JO. Current practices in the management of lymphatic filariasis. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2009, 7(5):595-605.



## Lampiran 1 . Analisa karakteristik Subyek Penelitian

### Usia

#### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
mf_stat * Kat_pre1 * Kat_umur	51	100.0%	0	.0%	51	100.0%

#### mf\_stat \* Kat\_pre1 \* Kat\_umur Crosstabulation

Kat umur				Kat_pre1		Total
				Pos	Neg	Pos
0-18	mf_stat	pos	Count	8	3	11
			% within mf_stat	72.7%	27.3%	100.0%
			% of Total	32.0%	12.0%	44.0%
	neg	Count	9	5	14	
		% within mf_stat	64.3%	35.7%	100.0%	
		% of Total	36.0%	20.0%	56.0%	
Total			Count	17	8	25
			% within mf_stat	68.0%	32.0%	100.0%
			% of Total	68.0%	32.0%	100.0%
> 18	mf_stat	pos	Count	4	1	5
			% within mf_stat	80.0%	20.0%	100.0%
			% of Total	15.4%	3.8%	19.2%
	neg	Count	19	2	21	
		% within mf_stat	90.5%	9.5%	100.0%	
		% of Total	73.1%	7.7%	80.8%	
Total			Count	23	3	26
			% within mf_stat	88.5%	11.5%	100.0%
			% of Total	88.5%	11.5%	100.0%

## Chi-Square Tests

Kat umur		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
0-18	Pearson Chi-Square	.202(b)	1	.653	1.000	.496
	Continuity Correction(a)	.000	1	.986		
	Likelihood Ratio	.203	1	.652		
	Fisher's Exact Test					
	Linear-by-Linear Association	.194	1	.660		
	N of Valid Cases	25				
> 18	Pearson Chi-Square	.434(c)	1	.510	.488	.488
	Continuity Correction(a)	.000	1	1.000		
	Likelihood Ratio	.384	1	.536		
	Fisher's Exact Test					
	Linear-by-Linear Association	.418	1	.518		
	N of Valid Cases	26				

a Computed only for a 2x2 table

b 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.52.

c 3 cells (75.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .58.

## Chi-Square Tests

Kat umur		Value	Exact Sig. (2-sided)
0-18	McNemar Test		.146(a)
	N of Valid Cases	25	
> 18	McNemar Test		.000(a)
	N of Valid Cases	26	

a Binomial distribution used.

## Symmetric Measures

Kat umur		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
0-18	Measure of Agreement Kappa	.080	.176	.449	.653
	N of Valid Cases	25			
> 18	Measure of Agreement Kappa	-.044	.083	-.659	.510
	N of Valid Cases	26			

a Not assuming the null hypothesis.

b Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

## Jenis Kelamin

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
mf_stat * Kat_pre1 * sex	51	100.0%	0	.0%	51	100.0%

### mf\_stat \* Kat\_pre1 \* sex Crosstabulation

sex			Kat_pre1		Total	
			Pos	Neg	Pos	
male	mf_stat	pos	Count	7	4	11
			% within mf_stat	63.6%	36.4%	100.0%
			% of Total	23.3%	13.3%	36.7%
	neg	Count	17	2	19	
		% within mf_stat	89.5%	10.5%	100.0%	
		% of Total	56.7%	6.7%	63.3%	
Total		Count	24	6	30	
		% within mf_stat	80.0%	20.0%	100.0%	
		% of Total	80.0%	20.0%	100.0%	
female	mf_stat	pos	Count	5	0	5
			% within mf_stat	100.0%	.0%	100.0%
			% of Total	23.8%	.0%	23.8%
	neg	Count	11	5	16	
		% within mf_stat	68.8%	31.3%	100.0%	
		% of Total	52.4%	23.8%	76.2%	
Total		Count	16	5	21	
		% within mf_stat	76.2%	23.8%	100.0%	
		% of Total	76.2%	23.8%	100.0%	

### Chi-Square Tests

sex		Value	Exact Sig. (2-sided)
male	McNemar Test		.007(a)
	N of Valid Cases	30	
female	McNemar Test		.001(a)
	N of Valid Cases	21	

a. Binomial distribution used.

## Symmetric Measures

sex			Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
male	Measure of Agreement	Kappa	-.207	.138	-1.705	.088
	N of Valid Cases		30			
female	Measure of Agreement	Kappa	.178	.097	1.432	.152
	N of Valid Cases		21			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

## Nilai rerata densitas mf kategori usia

## Ranks

	Kat_umur	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mf_dens	0-18	11	7.82	86.00
	> 18	5	10.00	50.00
	Total	16		

## Test Statistics(b)

	mf_dens
Mann-Whitney U	20.000
Wilcoxon W	86.000
Z	-.850
Asymp. Sig. (2-tailed)	.396
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.441(a)

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kat\_umur

## Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
mf_dens * Kat_umur	16	100.0%	0	.0%	16	100.0%

## Report

## mf\_dens

Kat_umur	Mean	N	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
0-18	438.4545	11	507.48189	175.0000	12.00	1566.00
> 18	1108.4000	5	1014.58085	1258.0000	1.00	2112.00
Total	647.8125	16	740.97766	306.0000	1.00	2112.00

## Nilai rerata densitas mf kategori jenis kelamin

### Mann-Whitney Test

#### Ranks

	Sex	N	Mean Rank	Sum of Ranks
mf_dens	Male	11	8.82	97.00
	female	5	7.80	39.00
	Total	16		

#### Test Statistics(b)

	mf_dens
Mann-Whitney U	24.000
Wilcoxon W	39.000
Z	-.397
Asymp. Sig. (2-tailed)	.692
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.743(a)

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sex

#### Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
mf_dens * sex	16	100.0%	0	.0%	16	100.0%

#### Report

##### mf\_dens

sex	Mean	N	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
male	702.0909	11	806.98134	175.0000	1.00	2112.00
female	528.4000	5	636.36177	437.0000	12.00	1566.00
Total	647.8125	16	740.97766	306.0000	1.00	2112.00

**Lampiran 2. Analisa hubungan ekspresi kadar IgG4 antifilaria pada subyek usia**

**Titik potong 0.2**

**Correlations**

			lgg4_pre	umur
Kendall's tau_b	lgg4_pre	Correlation Coefficient	1.000	.321
		Sig. (2-tailed)	.	.179
		N	11	11
Umur	lgg4_pre	Correlation Coefficient	.321	1.000
		Sig. (2-tailed)	.179	.
		N	11	11
Spearman's rho	lgg4_pre	Correlation Coefficient	1.000	.368
		Sig. (2-tailed)	.	.266
		N	11	11
Umur	lgg4_pre	Correlation Coefficient	.368	1.000
		Sig. (2-tailed)	.266	.
		N	11	11

**Titik potong 0.4**

**Correlations**

			lgg4_pre	umur
Kendall's tau_b	lgg4_pre	Correlation Coefficient	1.000	.341(*)
		Sig. (2-tailed)	.	.045
		N	19	19
Umur	lgg4_pre	Correlation Coefficient	.341(*)	1.000
		Sig. (2-tailed)	.045	.
		N	19	19
Spearman's rho	lgg4_pre	Correlation Coefficient	1.000	.470(*)
		Sig. (2-tailed)	.	.042
		N	19	19
Umur	lgg4_pre	Correlation Coefficient	.470(*)	1.000
		Sig. (2-tailed)	.042	.
		N	19	19

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

### Titik potong 0.6

#### Correlations

			lgg4_pre	umur
Kendall's tau_b	lgg4_pre	Correlation Coefficient	1.000	.124
		Sig. (2-tailed)	.	.428
		N	22	22
	Umur	Correlation Coefficient	.124	1.000
		Sig. (2-tailed)	.428	.
		N	22	22
Spearman's rho	lgg4_pre	Correlation Coefficient	1.000	.177
		Sig. (2-tailed)	.	.431
		N	22	22
	Umur	Correlation Coefficient	.177	1.000
		Sig. (2-tailed)	.431	.
		N	22	22

### Titik potong median = 0.85

#### Correlations

			lgg4_pre	umur
Kendall's tau_b	lgg4_pre	Correlation Coefficient	1.000	.007
		Sig. (2-tailed)	.	.963
		N	25	25
	Umur	Correlation Coefficient	.007	1.000
		Sig. (2-tailed)	.963	.
		N	25	25
Spearman's rho	lgg4_pre	Correlation Coefficient	1.000	-.005
		Sig. (2-tailed)	.	.982
		N	25	25
	Umur	Correlation Coefficient	-.005	1.000
		Sig. (2-tailed)	.982	.
		N	25	25



**Titik potong median = 1.09**

**Correlations**

			lgg4_pre	Umur
Kendall's tau_b	lgg4_pre	Correlation Coefficient	1.000	-.074
		Sig. (2-tailed)	.	.558
		N	32	32
	Umur	Correlation Coefficient	-.074	1.000
		Sig. (2-tailed)	.558	.
		N	32	32
Spearman's rho	lgg4_pre	Correlation Coefficient	1.000	-.109
		Sig. (2-tailed)	.	.554
		N	32	32
	Umur	Correlation Coefficient	-.109	1.000
		Sig. (2-tailed)	.554	.
		N	32	32

**Lampiran 3. Analisa hasil deteksi IgG4 antifilaria dengan metode ELISA terhadap mikroskopik.**

**Program cat maker : Sensitivitas dan Spesivitas**



ELISA	+	-
+	1	7
-		

Mikroskop	+	-
+	15	28
-		

Number of subjects in each group for the diagnostic test in the study. When you're ready, click on Calculate to get your Sensitivity, Specificity, Likelihood Ratios, etc.

**Lampiran 4. Analisa distribusi ekspresi IgG4 antiparasilaria pada kelompok status infeksi**

**True positif terhadap False Negatif**

**Mann-Whitney Test**

**Ranks**

	mik_ELISA	N	Mean Rank	Sum of Ranks
igg4_pre	TP	15	10.50	126.00
	FN	1	2.50	10.00
	Total	16		

**Test Statistics(b)**

	igg4_pre
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.913
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.001(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: mik\_ELISA

**True positif terhadap False Negatif**

**Mann-Whitney Test**

**Ranks**

	mik_ELISA	N	Mean Rank	Sum of Ranks
igg4_pre	TP	15	21.50	258.00
	FP	28	20.07	562.00
	Total	43		

**Test Statistics(b)**

	igg4_pre
Mann-Whitney U	156.000
Wilcoxon W	562.000
Z	-.355
Asymp. Sig. (2-tailed)	.723

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.738(a)
--------------------------------	---------

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: mik\_ELISA

**True positif terhadap True Negatif**

### Mann-Whitney Test

#### Ranks

	mik_ELISA	N	Mean Rank	Sum of Ranks
lgg4_pre	TP	12	13.50	162.00
	TN	7	4.00	28.00
	Total	19		

#### Test Statistics(b)

	lgg4_pre
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	28.000
Z	-3.551
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: mik\_ELISA

**Lampiran 5. Analisa pola respon IgG4 antiparasilaria berdasarkan hasil ELISA terhadap mikroskopik pada kelompok status infeksi**

**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Kat_IgG4_Pre2 * mf_stat	51	100.0%	0	.0%	51	100.0%

**Kat\_IgG4\_Pre2 \* mf\_stat Crosstabulation**

			mf_stat		
			pos	neg	Total
Kat_IgG4_Pre2	1.00	Count	15	28	43
		% within Kat_IgG4_Pre2	34.9%	65.1%	100.0%
		% of Total	29.4%	54.9%	84.3%
2.00	Count	1	7	8	
	% within Kat_IgG4_Pre2	12.5%	87.5%	100.0%	
	% of Total	2.0%	13.7%	15.7%	
Total	Count	16	35	51	
	% within Kat_IgG4_Pre2	31.4%	68.6%	100.0%	
	% of Total	31.4%	68.6%	100.0%	

## Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.000 <sup>a</sup>
N of Valid Cases	51	

a. Binomial distribution used.

## Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.094	.066	1.253	.210
N of Valid Cases		51			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

### Nilai rerata IgG4 sebelum pengobatan

## Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Igg4_pre * Mikro_Elisa_1	51	100.0%	0	.0%	51	100.0%

**Report**

Igg4\_5

Mikro_E lisa_1	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
TP	15	.03083	.034063	-.011	.132
FN	1	.00425	.	-.004	.004
FP	28	.05449	.057945	-.002	.235
TN	7	.04175	.053722	.003	.159
Total	51	.04480	.051280	-.011	.235

## Lampiran 6. Alat dan Bahan Penelitian



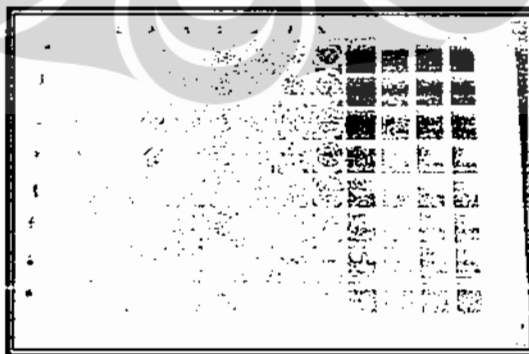
Bahan Penelitian



Inkubator



Alat penelitian







## RIWAYAT HIDUP

1. Nama lengkap : Devita Febriani Putri, S.Si
2. NPM : 0706170841
3. Jenis Kelamin : Perempuan
4. Agama : Islam
5. Tempat dan Tgl.Lahir : Bandar Lampung, 25 Februari 1985
6. Status : Belum Menikah
7. Alamat : Jl. Nusantara Gg. Cemara No. 3  
Bandar Lampung 35142
8. Pekerjaan : -
9. Alamat Instansi : -
10. Riwayat Pendidikan :
 

TK Harapan Bangsa Palembang	tahun: 1989 – 1990
SD Negeri 2 Rawa Laut Bandar Lampung	tahun: 1990 – 1996
SLTP Negeri 2 Bandar Lampung	tahun: 1996 – 1999
SMA Negeri 3 Bandar Lampung	tahun: 1999 – 2002
S1 Biologi UNILA Bandar Lampung	tahun: 2002 – 2006

### 11. Riwayat Pekerjaan :

- Asisten laboratorium Fisiologi Hewan I dan Parasitologi, Program Studi S1 Jurusan Biologi FMIPA UNILA.
- Magang Kerja di Klinik Pusat Penyelamatan Satwa Cikananga (PPSC) Kp. Cikananga, Ds Cisitu, Kec. Nyalindung, Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat, Indonesia.



# UNIVERSITAS INDONESIA

## FAKULTAS KEDOKTERAN

62

Jalan Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat

Pos Box 1358 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, Fax. : 31930372, e-mail : office@fk.ui.ac.id

No : 115 /PT02.FK/ETIK/2006

### KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

### ETHICAL CLEARANCE

Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

*The Committee of The Medical Research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

**"EVALUATION AND MONITORING OF A SINGLE ANNUAL DOSE DEC/ALBENDAZOLE TREATMENT STRATEGY TO CONTROL BRUGIA TIMORI AND INTESTINAL HELMINTHS ON ALOR ISLAND, INDONESIA".**

Nama peneliti utama : Dr.TANIAWATI SUPALI  
*Name of the principal investigator*

Nama institusi : PARASITOLOGI FKUI  
*Name of institution*

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas.  
*and approved the above mentioned proposal.*

Jakarta, 31 Mei 2006

Ketua  
Chairman

Prof.dr.R.Sjamsuhidajat  
Universitas Indonesia

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, peserta Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia:

Nama : Devita Febriani Putri  
NPM : 0706170841  
Kekhususan : Parasitologi

dengan ini menyatakan bahwa tesis saya yang berjudul “Penurunan IgG4 anti filaria dengan Bm14-ELISA pada Penduduk di Daerah Endemis Filariasis *Brugia timori* setelah Pengobatan Massal DEC-Albendazol.”

1. disusun dan diselesaikan oleh saya sendiri.
2. bukan merupakan salinan sebagian atau seluruh tesis, karya tulis atau jurnal ilmiah yang pernah disusun orang lain.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya. Saya memahami dan menyadari bahwa apabila di kemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar, maka kelulusan saya dan ijazah yang telah diterbitkan dapat dibatalkan.

Jakarta, 24 Juni 2009



(Devita Febriani Putri, S.Si.)

## Draft Artikel Majalah Kedokteran Indonesia

### Penurunan IgG4 anti filaria dengan Bm14-ELISA pada Penduduk di Daerah Endemis Filariasis *Brugia timori* setelah Pengobatan Massal DEC-Albendazol

Heri Wibowo, Devita F. Putri, Taniawati Supali \*

\*Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

**Abstrak:** Filariasis limfatik adalah penyakit tular vektor yang disebabkan oleh 3 spesies cacing filaria yaitu *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, dan *Brugia timori*. Filariasis ditargetkan untuk dieliminasi pada tahun 2020 oleh WHO dengan merekomendasikan pengobatan massal (MDA) dengan dosis tunggal kombinasi DEC 6 mg/kg berat badan + ALB 400 mg, selama 5 – 10 tahun. Teknik diagnostik yang digunakan adalah pemeriksaan mikrofilaria pada sediaan darah malam, namun teknik ini memiliki banyak kekurangan, sehingga perlu digunakan metode diagnosis lain, serologi, untuk memantau program eliminasi filariasis. Diagnosis serologi dengan antigen rekombinan *B.malayi* Bm14, mendeteksi antibodi IgG4 antifilaria. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan penurunan prevalensi mikrofilaria berdasarkan mikroskopis dengan penurunan respon antibodi IgG4 antifilaria berdasarkan uji ELISA dengan antigen rekombinan Bm14 sebelum dan sesudah pengobatan massal, serta melihat sensitivitas dan spesifisitas antigen rekombinan Bm14 sebagai alat diagnosis baru untuk memantau pengobatan massal filariasis. Studi longitudinal dilakukan di daerah endemis filariasis *B. timori* di Kabupaten Alor, Nusa Tenggara Timur. Pengukuran kadar IgG4 anti filaria menggunakan ELISA-Bm14 dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopik untuk dilihat sensitivitas dan spesifisitasnya. Kemudian dilihat pola penurunan kadar IgG4nya terhadap teknik mikroskop selama pengobatan 5 tahun. Dari 51 sampel serum yang diperiksa, didapatkan hasil sensitifitas (94%) dan Nilai Duga Negatif (NDN) yang tinggi 88% ( $p=0.000$ ). Dengan intervensi pengobatan dapat menurunkan kadar IgG4 antifilaria yang bermakna pada kelompok Mf+ELISA+ (*True positif*) dan Mf-ELISA+ (*False Positif*), sehingga uji diagnostik serologi menggunakan ELISA-Bm14 dapat digunakan untuk menentukan keberhasilan program pemberantasan filariasis di Indonesia.

**Abstract:** Lymphatic filariasis is a disease transmitted by mosquito vectors which is caused by 3 species of filarial worms, *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, and *Brugia timori*. Filariasis has been targeted to be eliminated by WHO in the year of 2020 using mass drug treatment in population with combination drugs of DEC 6 mg/kg body weight plus Albendazole 400 mg for 5 – 10 years. Diagnostic tool used in the program is microscopic examination of night blood samples however there are some constraints. Therefore, other diagnostic tools such as serological assay has to be used in monitoring the filariasis elimination program. Serological diagnosis using recombinant antigen *B. malayi* Bm14 has been developed to detect IgG4 antibody anti filaria. The purpose of this study is to determine the decrease of filariasis prevalence detected by two different diagnostic tools, microscopic examination for microfilariae and ELISA using Bm14 recombinant antigen for IgG4 antibody before and after mass treatment and the comparison between the two diagnostic tools in terms of sensitivity and specificity. A longitudinal study is done in *B. timori* endemic area in Alor district, Nusa Tenggara Timur. Measurement of IgG4 anti filaria titer using ELISA-Bm14 is compared to microscopic examination to detect microfilariae in determining the infected persons. The decrease of IgG4 titer as well as microfilarial counts are also observed during 5 years mass treatment. A total of 51 sera samples was examined by microscopic and ELISA showing sensitivity is (94%) and negative predictive value is also high, 88% ( $p=0.000$ ). After intervention with mass treatment, the titer of IgG4 decreased significantly in Mf+ELISA+ (*True Positif*) group as well as Mf-ELISA+ (*False Positif*) group. The result indicates that serological method, ELISA-Bm14, can be used to determine the progress of the filariasis elimination program in Indonesia .

## PENDAHULUAN

Filariasis limfatik (FL) adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi nematoda jaringan dan merupakan masalah kesehatan masyarakat dunia.<sup>1</sup> Diperkirakan lebih dari semiliar orang didunia beresiko dan 128 juta penduduk telah terinfeksi pada 80 negara.<sup>2,3</sup> Ada tiga spesies cacing filaria, yaitu *Wuchereria bancrofti* yang menginfeksi 115 juta orang di negara Afrika, India, dan daerah tropis lainnya serta daerah subtropis. *Brugia malayi* menginfeksi hampir 13 juta orang di India selatan, dan Asia Tenggara dan spesies yang terakhir *Brugia timori* menginfeksi penduduk yang tinggal di Indonesia Timur dan Timor-Leste.<sup>4</sup>

Filariasis ditargetkan untuk dieliminasi pada tahun 2020 oleh *World Health Organization* (WHO). WHO mendeklarasikan *Global Programme Elimination of Lymphatic Filariasis* (GPELF) yang mempunyai dua prinsip tujuan yaitu memutuskan transmisi dari infeksi penyakit filariasis limfatik dan mengurangi penderita serta mencegah kecacatan yang merupakan efek dari penyakit filariasis limfatik. GPELF merekomendasikan *Mass Drug Administration* (MDA) untuk filariasis bankrofti dan brugia dengan menggunakan dosis tunggal *Diethylcarbamazine Citrate* (DEC), 6 mg/kg berat badan, dikombinasikan dengan *Albendazol* (ALB), 400 mg, selama 4 – 6 tahun.<sup>5</sup> Program eliminasi filariasis dilakukan pada daerah endemis dengan prevalensi mikrofilaria (mf)  $\geq$  1%. Pemantauan program dilakukan dengan mengukur prevalensi dan densitas mikrofilaria setelah pengobatan massal. Apabila prevalensi mf < 1% dengan densitas mf < 10 mf/ml, tahap selanjutnya dilakukan uji diagnostik untuk mendapatkan sertifikat bebas filariasis menurut WHO.<sup>6</sup>

Teknik diagnostik yang telah sering dilakukan adalah pemeriksaan mikrofilaria dalam darah, namun teknik ini memiliki banyak kekurangan untuk

diterapkan. Sensitivitas dari tes tergantung pada volume darah yang diperiksa, dan waktu pengambilan darah yang terbatas pada malam hari sehingga kurang praktis. Terakhir, deteksi mikrofilaria kurang sensitif pada pasien *cryptic infection* atau pasien dengan jumlah densitas mf yang rendah.<sup>7</sup> Untuk memantau program pengobatan massal perlu dikembangkan metode diagnosis yang lebih efektif, yaitu dengan metode diagnostik secara serologi. Diagnosis serologi ini tidak terkendala oleh waktu pengambilan sampel darah. Sampel darah dapat diambil pada siang hari maupun malam hari.

Diagnostik filariasis secara serologi dapat dilakukan dengan deteksi adanya antigen filaria maupun antibodi terhadap filaria pada seseorang. Saat ini deteksi antigen hanya dapat dilakukan terhadap filariasis bankrofti, sedangkan pada infeksi filariasis brugia, diagnostik serologi dilakukan dengan mendeteksi adanya IgG4 anti filaria. Noordin et al (2004) mengembangkan deteksi IgG4 anti filaria untuk brugia, dengan menggunakan antigen rekombinan BmR1, sebab apabila menggunakan antigen utuh dari cacing filaria dapat menimbulkan reaksi silang dengan infeksi helminth yang lain.<sup>8,9</sup> Lammie et al (2004) melakukan studi perbandingan deteksi antibodi dengan menggunakan antigen rekombinan Bm14 dan Bm R1 untuk mendeteksi IgG4 spesifik dengan metode *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Hasil studi dilaporkan bahwa penggunaan antigen Bm14 memiliki sensitivitas 91% untuk *W. bancrofti*, dan 96% *B. malayi* sedangkan BmR1 memiliki sensitifitas 45% untuk *W. bancrofti* dan 100% untuk *B. malayi*.<sup>9</sup>

Penggunaan tes ELISA dengan antigen rekombinan BmR1 telah dilakukan untuk menentukan pada penduduk daerah endemik filariasis. Kepulauan Alor, NTT sebelum dan sesudah pengobatan massal DEC – Albendazole. Selain itu juga dilaporkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara densitas mf *B. timori* dengan level IgG4

antifilaria spesifik, dengan tes ELISA menggunakan antigen rekombinan Bm14. Dimana penurunan densitas mf diikuti dengan penurunan kadar IgG4 spesifik setelah pengobatan massal.<sup>6</sup>

Dengan mempertimbangkan adanya tiga spesies filaria di Indonesia (*W. bancrofti*, *B. malayi* dan *B. timori*) dan hasil spesifisitas dan sensitivitas tes serologi dengan antigen rekombinan Bm14 oleh Lammie et al, maka perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut untuk penggunaan deteksi antibodi IgG4 anti filaria sebagai alat pemantau keberhasilan program eliminasi filariasis di Indonesia, sesuai dengan pedoman WHO yang mensyaratkan penggunaan deteksi serologi untuk mendapatkan sertifikasi bebas filariasis setelah MDA.

Kepulauan Alor, NTT, Indonesia merupakan daerah endemik filariasis *B. timori* dengan prevalensi mf berkisar dari 2 - 26%, sehingga daerah ini menjadi target program pemberantasan filariasis dengan pengobatan massal. Sampai saat ini Bm14 belum dipakai dalam memantau keberhasilan pengobatan massal filariasis *Brugia*. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kegunaan Bm14 untuk menilai penurunan densitas mf pada populasi akan diikuti dengan penurunan IgG4 anti filaria, dimana penurunan kedua parameter tersebut saling berkorelasi sesudah 5 tahun pengobatan massal DEC – Albendazole di Kepulauan Alor, NTT, Indonesia. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai masukan bahwa antigen rekombinan Bm14 dapat dipakai untuk menilai keberhasilan program eliminasi filariasis terutama di daerah dengan filariasis *bankrofti* dan filariasis *brugia*.

Sampai saat ini uji ELISA dengan antigen rekombinan Bm14 belum dievaluasi untuk memantau program eliminasi filariasis di daerah endemik *B. timori*. Demikian pula dengan penelitian pola penurunan respon imun IgG4 antifilaria pada penduduk yang tinggal di daerah endemik *B. timori* pasca pengobatan massal 5 tahun. Sampai saat

ini Bm14 belum dipakai dalam memantau keberhasilan pengobatan massal filariasis *Brugia*. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kegunaan Bm14 untuk menilai penurunan densitas mf pada populasi akan diikuti dengan penurunan IgG4 anti filaria, dimana penurunan kedua parameter tersebut saling berkorelasi sesudah 5 tahun pengobatan massal DEC – ALB di Kep Alor, NTT, Indonesia. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai masukan bahwa antigen rekombinan Bm14 dapat dipakai untuk menilai keberhasilan program eliminasi filariasis terutama di daerah dengan filariasis *bankrofti* dan filariasis *brugia*.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan studi longitudinal yang dilakukan di daerah endemik filariasis *B. timori* di Kabupaten Alor yang sedang melaksanakan pemberantasan filariasis secara massal. Pengobatan dilakukan menurut standar WHO dengan memberikan obat kombinasi DEC 6 mg/kg berat badan ditambah Albendazole 400 mg, yang diberikan 1 tahun sekali selama 5 tahun. Indikator keberhasilan pengobatan dianalisa dengan membandingkan status infeksi filaria berdasarkan pemeriksaan mikroskopik pada sediaan darah filtrasi dan pemeriksaan serologi pada sebelum, selama dan setelah pengobatan. Status infeksi filaria secara serologi dilakukan dengan mengukur adanya kadar IgG4 anti filaria menggunakan antigen rekombinan *B. malayi* Bm14 yang diperiksa dengan teknik ELISA. Penelitian ini sudah mendapat persetujuan dari komisi etik Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

Pada penelitian ini sampel diambil dari desa Mainang, Pulau Alor, Nusa Tenggara Timur yang ikut pada program pemberantasan filariasis. Daerah ini merupakan daerah endemis filariasis *B. timori*. Pemeriksaan secara mikroskopis pada sediaan darah filtrasi

sebelum pengobatan ditemukan prevalensi mikrofilaria sebesar 26%.

Kegiatan penelitian dimulai dengan pemeriksaan darah untuk mengetahui status infeksi berdasarkan mikroskopi dan serologi sebelum pengobatan dilakukan mulai tahun 2002 dan berakhir pada tahun 2007 (setahun setelah pengobatan masal yang terakhir). Data prevalensi mf merupakan data sekunder dari Departemen Parasitologi FKUI. Uji ELISA dengan antigen rekombinan Bm14 akan dilakukan di laboratorium Filariasis, Departemen Parasitologi, FKUI.

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh penduduk desa Mainang yang sedang dilakukan pengobatan masal filariasis. Sampel penelitian dipilih secara *Purposive sampling* terhadap individu yang tercatat memiliki catatan riwayat pengobatan lengkap (minum obat 1 kali setahun selama 5 tahun) dan sampel sediaan darah/serum lengkap (diambil setahun sekali pada sebelum, selama dan 1 tahun setelah pengobatan).

Besarnya sampel untuk dihitung dengan formula : Uji hipotesis 2 beda rerata. Dari perhitungan menggunakan rumus tersebut didapatkan jumlah sampel minimal sebesar 51 orang. Namun dalam pengumpulan sampel diperoleh sample serum, untuk kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis, dan uji serologi ELISA IgG4 anti filaria.

Pemeriksaan mikroskopik pada sediaan darah filtrasi. Sebanyak 1 cc darah yang diambil melalui vena pada malam hari, pindahkan pada tabung ependorf yang mengandung antikoagulan EDTA. Pasang bagian tabung siring 5 cc pada holder yang telah dipasang nucleophore, masukan 1 cc darah dari tabung ependorf, tekan siring untuk mewatkan darah pada membran nukleopor pada holder. Bilas dengan cara menyemprotkan air dengan siring melalui holder, pembilasan dilakukan 2 kali. Buka holder, ambil membran nukleopor dengan pinset dan diletakkan pada kaca slide, biarkan beberapa saat hingga kering. Membran *nukleopore* pada kaca

slide diteteskan metahanol untuk fiksasi, biarkan beberapa saat hingga kering. Teteskan larutan giemsa (1 tetes larutan giemsa : 14ml bufer ph7) hingga menutupi seluruh permukaan membran *nukleopore*, diamkan selama 15 menit. Diperiksa dibawah mikroskop (10x10) untuk menentukan ada atau tidaknya mf, perhitungan jumlah mf dilakukan pada sediaan yang positif.

Uji ELISA dengan rekombinan Bm14 dilakukan dengan cara sebagai berikut, sebelum dilakukan pemeriksaan ELISA, semua komponen pemeriksaan (alat dan kit) ditaruh terlebih dahulu ditemperatur ruang, untuk hasil pemeriksaan yang lebih optimal. Lakukan pengenceran serum sampel 1:100 dengan pelarut sampel (sampel diluent yang telah diencerkan 10 kali). Masukkan 100 µl sampel ke dalam masing – masing well dan diinkubasi selama 120 menit dalam 37°C. Kemudian larutan dibuang, dan dilakukan pencucian sebanyak 4 kali dengan PBS/Tween Wash Buffer concentrate. Masukkan larutan Peroxidase Enzyme Conjugate Monoclonal anti – human IgG4 HRP (yang sudah diencerkan 1:100 dengan conjugate diluent) sebanyak 100 µl, pada masing – masing well lalu diinkubasi selama 45 menit pada 37°C. Kemudian larutan dibuang dan dilakukan pencucian kembali, sebanyak 4 kali. Masukkan larutan TMB substrate chromogen (yang telah diencerkan 1:20 dengan substate buffer) sebanyak 100µl pada masing – masing well. Tutup dengan strip dan letakkan dalam ruang gelap dengan temperature ruang. Dilakukan pengetukan dalam interval 5 menit selama 15 menit, untuk meningkatkan pewarnaan biru pada well. Masukkan 100 µl larutan stopping solution pada masing – masing well dan dicampur perlahan. Penambahan stopping solution akan menurunkan reaksi well biru menjadi kuning. Hasil reaksi dibaca pada ELISA spectrophotometer (Dynatech, USA) dengan panjang gelombang 450nm. Hasil pengukuran dalam satuan

Optical Density (OD), dengan nilai ambang batas (cut off point) adalah 0.2. Sampel serum dengan nilai  $OD \geq 0.2$  dikelompokkan sebagai IgG4 positif, dan nilai  $OD < 0.2$  sebagai IgG4 negatif. Pada beberapa sampel plasma yang menunjukkan hasil ELISA dengan nilai OD tinggi sebelum pengobatan dan hasil IgG4 negatif ( $OD < 0.2$ ) setelah pengobatan pertama, kemudian positif kembali pada pengobatan selanjutnya, maka dilakukan ELISA ulang pada sampel serum tersebut.

Untuk Pengolahan data dan analisis statistik digunakan program SPSS 15. Untuk mengetahui normalitas sebaran data pada masing-masing variabel dengan data kontinyu dilakukan uji *Kolmogorov Smirnov*. Jika ditemukan sebaran data yang tidak normal maka akan dilakukan transformasi log untuk menormalkan data. Akan tetapi bila sebaran data normal maka akan dilanjutkan dengan uji parametrik, dan bila tidak normal maka dilakukan uji non parametrik.

Uji beda rerata kadar IgG4 anti filaria sebelum pengobatan antara kelompok positif dan negatif filaria dilakukan uji *t-unrelated*, jika data tidak berdistribusi normal dilakukan uji *Mann Whitney*. Uji beda rerata kadar IgG4 anti filaria sebelum dan sesudah pengobatan dilakukan uji *t-related*, jika data tidak berdistribusi normal dilakukan uji *Wilcoxon*.

Untuk mengetahui kemampuan teknik ELISA dalam mendiagnosis filaria yang ditetapkan secara mikroskopis (pada sediaan filtrasi) sebagai gold standard, dilakukan uji diagnostik yang akan diolah menggunakan software *CAT\_Maker*. Besarnya perbedaan proporsi positif/negatif hasil pemeriksaan ELISA terhadap proporsi positif/negatif hasil pemeriksaan mikroskopik dilakukan uji *Mc Nemar*. Uji diagnostik dilakukan terhadap data status infeksi sebelum pengobatan.

Untuk melakukan uji diagnostik, data positif dan negatif hasil pemeriksaan Mikroskopik dan ELISA IgG4 anti filaria

akan di tabulasi dan dihitung dengan formula sebagai berikut :

		Mikroskopis	
		Present	Absent
ELISA IgG4	Positive	A	B
	Negative	C	D

Keterangan :

Sensitivity :  $a/a+c$   
 Specificity :  $d/b+d$   
 Pretest Probability (prevalence) :  $(a+c)/(a+b+c+d)$   
 Positive Predictive Value (PPV/NDP) :  $a/(a+b)$   
 Negative Predictive Value (NPV/NDN) :  $d/(d+c)$   
 Likelihood Ratio+ :  $\text{sensitivity}/(1-\text{specificity})$   
 Likelihood Ratio - :  $(1-\text{sensitivity})/\text{specificity}$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Studi longitudinal penelitian ini dilakukan di daerah endemik Filariasis *B. timori* di wilayah kabupaten Alor yang dipilih berdasarkan hasil survei filariasis yang dilakukan Divisi Helmentologi, Departemen Parasitologi, FKUI. Selanjutnya bersama dengan P2M, Depkes daerah ini dialokasikan untuk uji coba program pemberantasan filariasis dengan pengobatan masal kombinasi DEC 6 mg/kg berat badan dan Albendazole 400 mg setahun sekali selama 5 tahun. Pengobatan diberikan kepada seluruh penduduk kecuali ibu hamil serta anak di bawah 2 tahun. Untuk memantau keberhasilan program perlu dipilih *sentinel site*, yaitu daerah dengan prevalensi mf paling tinggi. Desa Mainang merupakan *daerah sentinel site*. Pemantauan dilakukan dengan memeriksa darah dari 500 orang penduduk. Area penelitian sebagian besar merupakan persawahan dan ladang dan lebih dari 95% mata pencaharian kepala keluarga sebagai petani dengan keadaan



sosioekonomi yang rendah serta hampir semua bangunan rumah tidak memiliki sistim perlindungan gigitan nyamuk (pemasangan kasa atau kelambu).

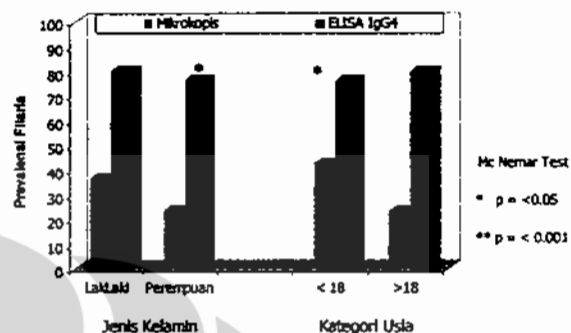
Pada penelitian ini telah dipilih 51 sampel darah individu yang ikut skrining awal 2002 dan lengkap mengikuti 5x MDA hingga tahun 2007. Status infeksi pada 51 sampel diperiksa secara mikroskopis pada sediaan darah filtrasi. Penentuan kadar IgG4 antifilaria secara kuantitatif dengan uji ELISA terhadap antigen rekombinan Bm14 pada setiap sampel hanya pada sampel sebelum pengobatan (2002), satu tahun setelah pengobatan pertama, pengobatan ketiga dan satu tahun setelah pengobatan kelima. Karakteristik dari 51 subyek yang masuk dalam kriteria inklusi penelitian ini tertera pada Tabel 4.1

**Tabel 4.1. Distribusi Infeksi filaria dengan pemeriksaan mikroskopik sebelum pengobatan berdasarkan jenis kelamin dan usia.**

Status	Jumlah diperiksa	Jumlah Positif (%)	Chi Square Test (p)
Jmlh subyek	51 orang		
- Laki-laki	30 orang	11 (36,7%)	0.330
- Perempuan	21 orang	5 (23,8%)	
Usia (tahun)			
- ≤18	21 orang	9 (42,9%)	0.057
- >18	30 orang	7 (23,3%)	

Hasil analisa menggambarkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna status infeksi antara laki – laki dan perempuan ( $X^2$  test = 0.330) dan pada usia ≤ 18 tahun dan > 18 tahun ( $X^2$  test = 0.057 ). Nilai rerata densitas mf pada laki-laki Mean 702±SD 807, sedangkan pada perempuan 528 ± 636, tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Dan nilai rerata densitas mf pada usia ≤ 18

adalah 438±507 dan pada usia > 18 tahun adalah 1108±1014 juga tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.



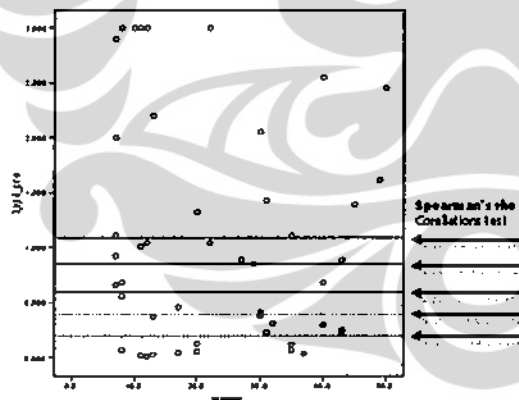
**Gambar 4.1. Perbandingan hasil pemeriksaan filaria secara mikroskopis dan ELISA IgG4 pada kelompok jenis kelamin dan usia.**

Status infeksi filaria berdasarkan pemeriksaan IgG4 meningkat baik pada kelompok berdasarkan jenis kelamin maupun usia, seperti tertera pada gambar 4.1. Pada kelompok kategori jenis kelamin terdapat korelasi yang kuat antara uji diagnostik secara mikroskopik dan deteksi IgG4 antifilaria, dimana IgG4 positif meningkat seiring dengan mf positif. Pada kelompok kategori usia, mf positif pada usia >18 tahun lebih rendah daripada usia <18 tahun tetapi perbedaan ini tidak berbeda bermakna ( $p=0.057$ ), sedangkan IgG4 positif lebih tinggi pada usia > 18 tahun dibandingkan dengan usia ≤ 18 tahun.

Prevalensi mf yang diperiksa secara mikroskopik pada subyek penelitian sebelum pengobatan dilakukan menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antara laki-laki dan perempuan, demikian pula terhadap kelompok anak-anak dan dewasa. Hal ini menunjukkan bahwa semua kelompok subyek penelitian memiliki resiko infeksi filariasis yang sama. Vektor filariasis *B. timori* di daerah penelitian adalah nyamuk *An. barbirostris*, spesies nyamuk ini mempunyai tempat perindukan di sawah dan mempunyai kebiasaan menggigit *indoor dan outdoor* sehingga baik pada laki-laki dan perempuan maupun pada

kelompok usia anak dan dewasa mempunyai peluang tergigit/tertular vektor filariasis yang sama<sup>33</sup>. Keadaan ini akan berbeda jika dibandingkan dengan daerah endemik filaria dengan vektor *Mansonia* di Sumatera dan Kalimantan yang memiliki aktivitas menggigitnya outdoor seperti dikebun, prevalensi mf biasanya tinggi pada kelompok laki-laki usia dewasa (pekerja).

Seluruh subyek dalam penelitian ini merupakan penduduk asli dan lahir di daerah penelitian, umur subyek sekaligus menggambarkan lamanya subyek tinggal di daerah endemik yang berisiko untuk terinfeksi. Untuk melihat pengaruh lamanya paparan infeksi terhadap ekspresi kadar IgG4 anti filaria dilakukan analisa korelasi antara usia dengan ekspresi IgG4 antifilaria. Untuk melihat apakah hubungan umur dengan kadar IgG4 dipengaruhi oleh tingginya kadar IgG4 anti filaria pada seseorang maka analisa korelasi dilakukan pada semua kasus dan pada beberapa titik potong kadar IgG4 anti filaria : 0,2; 0,4; 0,6; 0,85 (median) dan 1,09 (means) gambar 4.2.



**Gambar 4.2. Hubungan kadar IgG4 spesifik anti filaria Bm14 dengan usia.**

Hasil analisis korelasi usia dan kadar IgG4 pada semua kasus, tidak menunjukkan korelasi yang bermakna ( $N=52$ ,  $r = -0.087$ ,  $p = 0.544$ ). Sedangkan hasil analisis usia dengan kadar IgG4 pada subyek-subyek yang kadar IgG4 anti filaria pada titik potong  $\leq 0,4$

terdapat korelasi bermakna yang berarti kenaikan IgG4 antifilaria yang meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Analisa korelasi umur dengan kadar IgG4 pada titik potong diatas kadar 0,4 maupun dibawah 0,2 tidak menunjukkan adanya korelasi yang bermakna (gambar 4.2).

Hasil analisis menunjukkan bahwa hubungan umur dengan kadar IgG4 dipengaruhi oleh keadaan tinggi rendahnya kadar IgG4 seseorang. Pada subyek yang memiliki OD IgG4 anti filaria diatas 0,4, meningkatnya usia tidak diikuti oleh kenaikan kadar IgG4 anti filaria, sebaliknya pada kelompok kadar IgG4 antifilaria rendah ( $OD < 0.4$ ) semakin meningkatnya usia secara signifikan diikuti oleh meningkatnya kadar IgG4 anti filaria. Hal ini dikarenakan bahwa kadar IgG4 antifilaria dalam tubuh dalam keadaan *plateau*, sehingga bertambahnya usia (yang berarti paparan infeksi semakin lama) tidak menyebabkan kenaikan kadar IgG4 anti filaria. Penelitian yang dilakukan Terhell et.al<sup>34</sup>, menyatakan bahwa pada daerah endemis yang terus terpapar infeksi filaria, terdapat IgG4 antifilaria terus meningkat seiring dengan bertambahnya usia, dan peningkatan kadar IgG4 mencapai keadaan *plateau* pada usia lebih dari 30 tahun. Hal ini tidak sesuai dengan hasil penelitian, dimana keadaan *plateau* pada kadar IgG4 tidak ditentukan dengan batasan usia, tetapi ditentukan dengan produksi IgG4 antifilaria didalam tubuh.

Untuk mengetahui status infeksi, diperlukan uji diagnostik secara mikroskopis sebagai baku emas dan deteksi IgG4 (ELISA) sebagai uji alternatif. Pengembangan deteksi antibodi ini bertujuan untuk keperluan skrining pada pemetaan area endemik filariasis, pasca pengobatan masal untuk menentukan status keberhasilan pengobatan masal filariasis di daerah endemik. Evaluasi secara serologi ini akan menentukan apakah program pengobatan akan dilanjutkan (diperpanjang) atau tidak, serta untuk

diagnosis alternatif karena adanya kendala penggunaan darah malam dan kurang sensitif pemeriksaan mikroskop pada penderita infeksi kriptik.

Hasil pemeriksaan status infeksi filaria berdasarkan IgG4 yang diukur secara ELISA menunjukkan proporsi infeksi yang signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopik. Hasil pemeriksaan IgG4 berdasarkan ELISA di kategorikan positif setelah dihitung berdasarkan nilai *cut of point* sebesar 0.2. Hasil uji diagnostik antara deteksi IgG4 anti filaria dengan metoda ELISA dengan status infeksi filaria dengan menemukan mikrofilaria secara mikroskopik berdasarkan teknik filtrasi tertera pada tabel 4.2.

**Tabel 4.2. Hasil deteksi IgG4 anti filaria dengan metoda ELISA terhadap status infeksi filaria berdasarkan pemeriksaan mikroskopik.**

Mikroskopik \ ELISA IgG4	Positif (%)	Negatif (%)	Total (%)
Positif (%)	15 (34,9)	28 (65,1)	43 (84,3)
Negatif (%)	1(12,5)	7(87,5)	8 (15,7)
Total	16 (31,4)	35 (68,6)	51 (100)

Mc. Nemar test.  $p = 0,00$

Kappa, = - 0,036

Hasil uji diagnostik ELISA terhadap mikroskopik sebelum pengobatan didapatkan 4 karakteristik kelompok sebagai berikut :

1. Kelompok mikroskopik positif dan ELISA IgG4 anti filaria positif (*True positive=TP*) sebanyak 15 kasus.
2. Kelompok mikroskopik negatif dan ELISA IgG4 anti filaria positif (*False positif=FP*) sebanyak 28 kasus.

3. Kelompok mikroskopik positif dan ELISA IgG4 anti filaria negatif (*False Negatif=FN*) sebanyak 1 kasus.
4. Kelompok mikroskopik negatif dan ELISA IgG4 anti filaria negatif (*True negative=TN*) sebanyak 7 kasus.

**Tabel 4.3. Nilai uji diagnostik ELISA terhadap mikroskopik.**

Nilai Uji Diagnostik	Persentase	95% Confident interval
Sensitivitas	94%	82 % - 100 %
Spesivitas	20 %	7 % - 33 %
Pretest Probability	31 %	19 % - 44 %
Nilai duga positif	35 %	21 % - 49 %
Nilai duga negatif	88 %	65 % - 100 %

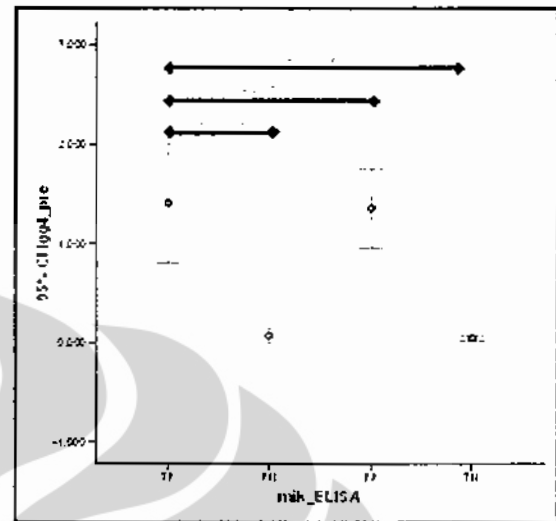
Hasil analisis menunjukkan bahwa sensitivitas metode ELISA terhadap mikroskopik sebesar 94% menyatakan teknik diagnostik tersebut mampu mendeteksi sebesar 94% proporsi subyek yang sakit (terinfeksi) dengan hasil uji positif benar. Sedangkan spesifisitasnya 20% menyatakan bahwa tehnik diagnostik tersebut mampu mendeteksi 20 % proporsi subyek yang sehat (tidak terinfeksi) dengan hasil uji negatif benar. Nilai duga positif (NDP) yang menyatakan probabilitas subyek terinfeksi apabila nilai uji diagnostiknya positif adalah 35%, dan nilai duga negatif (NDN) yang menyatakan probabilitas subyek tidak terinfeksi bila hasil ujinya negatif adalah 88%.

Hasil uji diagnostik sebelum MDA menunjukkan nilai sensitivitas uji ELISA yang tinggi yaitu 94% namun spesifisitas yang rendah yaitu 20 %. Nilai sensitivitas yang tinggi pada uji ELISA menunjukkan korelasi kuat dengan uji mikroskopik dalam mendeteksi positif. Namun tingginya kemampuan uji ELISA mendeteksi positif pada sampel menyebabkan nilai spesifisitas yang rendah, dikarenakan banyak individu yang negatif mikroskopik tetapi terdeteksi positif

dengan uji ELISA (false positif). Hasil uji menunjukkan dari 35 individu yang terdeteksi negatif mf hanya 7 individu yang terdeteksi negatif dengan uji ELISA. Nilai duga negatif pada uji ELISA terhadap mikroskop juga cukup tinggi yaitu 88%, hal ini menunjukkan bahwa antigen Bm14 cukup baik untuk mendeteksi evaluasi pengobatan masal. Peningkatan kemampuan deteksi mikroskopik oleh deteksi serologis (ELISA) menyebabkan false positif juga ditemukan pada deteksi antigen dengan ICT pada filariasis bancrofti. Penggunaan ICT pada deteksi antigen filariasis bancrofti diketahui dapat meningkatkan kemampuan deteksi filariasis sebesar 5-20%.<sup>35</sup>

Seperti infeksi cacing pada umumnya, paparan antigen cacing filaria yang masuk dalam tubuh hospes akan mengaktifasi sel Th2 yang akan menghasilkan beberapa sitokin diantaranya IL4 dan IL5. IL4 akan mengaktifasi sel B untuk memproduksi IgE. Pada infeksi kronis antigen cacing akan mengaktifasi sel T regulator (Treg) yang sebagian besar memproduksi IL10 yang bersifat antiinflamasi. IL10 akan mempengaruhi sel B untuk memproduksi IgG4. Dalam populasi ditemukan terdapat beberapa kasus infeksi kronik tetapi tidak diikuti oleh aktivasi dari Treg. Individu ini ditandai dengan adanya kadar IgE yang tetap tinggi tetapi kadar IgG4 yang rendah.<sup>29</sup> Diduga adanya satu individu yang hasil pemeriksaan mikroskopnya positif tetapi IgG4 anti filariannya rendah dan terdeteksi negatif dengan uji ELISA memiliki aktivitas Treg yang rendah.

Distribusi ekspresi anti filaria IgG4 pada masing-masing kelompok status infeksi setelah dilakukan pemeriksaan mikroskopik dan ELISA tertera pada gambar 4.3.

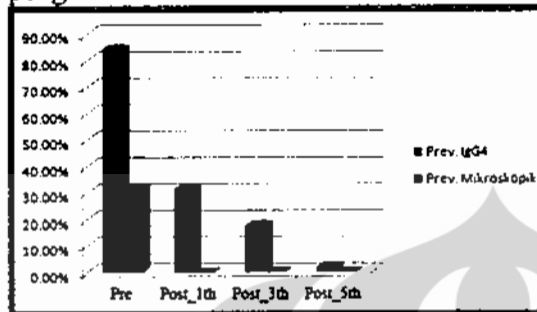


**Gambar 4.3. Distribusi kadar anti filaria IgG4 pada masing-masing kelompok status infeksi setelah pemeriksaan mikroskopik dan ELISA**

Hasil analisis statistik pada kelompok  $Mf+ELISA+$  (TP) dengan  $Mf+ELISA-$  (FN) menunjukkan adanya perbedaan bermakna ( $p=0,004$ ), demikian pula pada kelompok  $Mf+ELISA+$  (TP) dengan  $Mf-ELISA-$  (TN) ( $p=0,000$ ). Sedangkan antara kelompok  $Mf+ELISA+$  (TP) dengan  $Mf-ELISA+$  (FP) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,723$ ) pada hasil ELISAnya. Dari ekspresi IgG4 antifilaria tersebut, hasil ekspresi IgG4 antifilaria tertinggi terdapat pada kelompok  $Mf+ELISA+$  (TP), sedangkan yang ekspresi IgG4 antifilaria terendah pada kelompok  $Mf-ELISA-$  (TN).

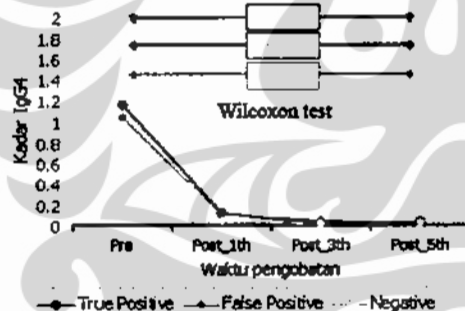
Dampak pengobatan masal yang diberikan selama lima tahun terhadap kadar IgG4 tampak pada gambar 4.4. dan 4.5. Pada gambar 4.4 menunjukkan prevalensi mf dan IgG4 antifilaria pada kelompok positif yang mengalami penurunan setelah diberikan pengobatan masal. Dan pada gambar 4.5 dilakukan analisis dengan membandingkan pada 3 kelompok status infeksi pada pra pengobatan: *True positif, False Positif & Negatif*. Grafik gambar 4.5 pada kelompok *false positif* juga

dilakukan untuk menilai status infeksi berdasarkan pola respon IgG4 anti filaria pada sebelum, selama dan setelah pengobatan dilakukan.



**Gambar 4.4.** Pola prevalensi mikrofilaria dan prevalensi IgG4 anti filaria pada sebelum, selama dan setelah pengobatan dilakukan.

Pada Gambar 4.4 menunjukkan bahwa pada pemeriksaan mikroskopik, prevalensi mf mengalami penurunan sampai 0% pada pengobatan MDA pertama, pada kelompok positif. Penurunan prevalensi mf diikuti dengan penurunan prevalensi IgG4 antifilaria dari MDA pertama sampai MDA kelima.



**Gambar 4.5.** Pola respon IgG4 anti filaria pada sebelum, selama dan setelah pengobatan dilakukan.

Pada gambar 4.5 menggambarkan pola respon IgG4 pada ketiga kelompok uji. Hasil analisa statistik pada kelompok Mf+ELISA+ (TP) sebelum MDA mengalami penurunan kadar IgG4 antifilaria dengan nilai rerata (mean  $1.312 \pm SD 0.972$ ) menjadi  $0.03 \pm 0.034$  pada MDA5. Penurunan ini berbeda bermakna dengan  $p=0,003$ . Pada MDA5 dari 15 individu

yang diperiksa sampelnya, terdapat 1 individu dengan kadar IgG4 antifilaria  $> 0,2$  dan 14 individu lainnya  $< 0,2$ .

Hasil analisa statistik pada kelompok Mf-ELISA+ (FP) juga mengalami penurunan kadar IgG4 antifilaria yang berbeda bermakna ( $p=0,000$ ). Dari 28 individu nilai rerata kadar IgG4 antifilaria pada sebelum MDA  $1.361 \pm 1.029$  menjadi  $0.054 \pm 0.058$  pada sesudah MDA5. Sedangkan pada kelompok negatif penurunan kadar IgG4 antifilaria dari sebelum pengobatan ( $0,05 \pm 0,03$ ) menjadi ( $0,04 \pm 0,0$ ) setelah pengobatan yang secara statistik tidak bermakna ( $p=0,109$ ).

Kombinasi dari DEC dan ALB efektif membunuh parasit dan menurunkan densitas mf, hal ini terbukti dengan terjadinya penurunan prevalensi mf sampai 0% sejak tahun pertama sesudah pengobatan. Hal ini sesuai dengan teori Bockarie et al<sup>36</sup>, yang menyatakan bahwa kombinasi DEC – ALB dapat menurunkan prevalensi mf hanya pada satu tahun pengobatan. Menghilangnya mikrofilaria sejak tahun pertama diikuti oleh penurunan kadar IgG4 anti filaria yang signifikan. Sejak satu tahun setelah pengobatan kadar IgG4 anti filaria pada kelompok terinfeksi filaria (Kelompok *True positive*) menurun hingga kadar IgG4 anti filariannya tidak berbeda bermakna dibandingkan kelompok negatif. Hal yang sama terjadi pada kelompok *False positive*. Menurunnya kadar IgG4 antifilaria pada kelompok *False positive* mengindikasikan adanya infeksi filariasis karena kadar IgG4 kelompok false positive ini menurun sebagai respon adanya pengobatan yang menurunkan parasit cacing filaria ataupun antigen yang tidak ditemukan secara mikroskopis. Hingga tahun ke-5 setelah pengobatan kadar IgG4 antifilaria baik kelompok true positive dan false negative berada pada OD  $< 2$  dan tidak berbeda bermakna dengan kelompok negatif. Sedangkan pada kelompok negatif (OD IgG4 antifilaria  $< 0,2$ ) tidak ada perubahan yang bermakna antara

sebelum hingga sesudah 5 tahun pengobatan.

Pola penurunan IgG4 antifilaria yang bermakna setelah diberikan pengobatan masal DEC-Albendazole pada kelompok *False positive* mengindikasikan adanya infeksi aktif dan sebaliknya keadaan ini menunjukkan kelemahan uji mikroskop dalam mendeteksi infeksi aktif. Terdapat beberapa kemungkinan teknik mikroskopik gagal dalam mendiagnosis kasus filariasis diantaranya : kasus infeksi kriptik yang ditandai dengan densitas mf sangat rendah, adanya cacing dewasa yang infertil atau infeksi tunggal (*single sex*), atau infeksi larva stadium 3 yang belum berkembang menjadi cacing dewasa, sehingga mf tidak terdeteksi dalam darah.<sup>18</sup> Hasil ini membuktikan bahwa diagnosis filaria berdasarkan respon IgG4 antifilaria terhadap antigen Bm 14 yang diukur secara ELISA lebih mampu mendeteksi adanya infeksi aktif filariasis tiga kali lipat lebih baik dibandingkan tehnik mikroskopik.

Pengobatan dengan kombinasi DEC-Albendazole sangat efektif untuk penyembuhan infeksi filariasis. Efektifitas DEC sebagai mikrofilarisidal dan makrofilarisidal berhubungan dengan adanya kerjasama berbagai komponen, seperti *arachidonic acid pathway*, respon imun alami hospes serta aktivitas dari *nitric oxide*<sup>36</sup>. Begitu pula dengan albendazol berperan sebagai makrofilarisidal yang merupakan inhibitor dari reaksi polimerase dari tubulin parasite di dalam mikrotubul. Penghambatan ini mengakibatkan berkurangnya pembentukan adenosin triphospat (ATP) di tubuh parasit, sehingga lama kelamaan parasit akan mati.**Error! Bookmark not defined.**

Akhirnya diharapkan uji diagnostik serologi dengan menggunakan antigen rekombinan Bm14 dapat digunakan untuk menentukan kapan diakhirinya pengobatan masal yang menandakan keberhasilan program pemberantasan filariasis di Indonesia. Selain itu antigen rekombinan Bm14

dalam format ELISA perlu diubah dalam bentuk dipstick/kit yang dapat digunakan untuk alat diagnosis filarial agar dalam menegakkan diagnosis menjadi lebih mudah dan efisien.

## KESIMPULAN

Pola penurunan respon IgG4 antifilaria setelah pengobatan berkorelasi dengan hilangnya mf dalam darah, menunjukkan bahwa diagnosis IgG4 antifilaria menggunakan antigen rekombinan Bm14 dapat digunakan sebagai prosedur evaluasi keberhasilan pengobatan filariasis. Ekspresi IgG4 antifilaria pada kelompok yang terinfeksi menunjukkan pola penurunan respon yang bermakna setelah diberikan pengobatan dengan DEC-Albendazole dosis tunggal selama 5 tahun pengobatan masal. Hasil uji diagnostik menunjukkan bahwa uji serologi ELISA dengan antigen rekombinan Bm14 memiliki sensitifitas dan nilai duga negatif yang tinggi dalam mendeteksi infeksi filariasis di daerah endemik tinggi infeksi *Brugia timori*.

Uji serologi dengan antigen rekombinan Bm14 merupakan alat diagnostik baru yang direkomendasikan untuk dipakai dalam evaluasi keberhasilan program pemberantasan filariasis di Indonesia.

Antigen rekombinan Bm14 digunakan untuk alat diagnosis *Brugia Rapid (BR)* agar menegakkan diagnosis menjadi lebih mudah dan efisien. Serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang evaluasi program pengobatan masal di Indonesia secara kuantitatif.

## Daftar Pustaka

1. Pani SP, Reddy GS, Das LK, Vanamail P, Hoti SL, Ramesh J, Das PK. Tolerability and efficacy of single dose albendazole, diethylcarbamazine citrate (DEC) or co-administration of albendazole with DEC in the clearance of *Wuchereria bancrofti* in asymptomatic microfilaraemic