

**RESPONS HEMATOPOITIK MENCIT YANG DIINFEKSI DENGAN
Plasmodium berghei STADIUM ERITROSITIK IRADIASI GAMMA**

Darlina¹, Teja Kisnanto¹, Ahmad Fauzan²

¹ Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi, BATAN

² FMIPA Biologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta
E-mail: mdarlina@batan.go.id

Diterima: 11-05-2012

Diterima dalam bentuk revisi: 10-07-2012

Disetujui: 31-07-2012

ABSTRAK

RESPONS HEMATOPOITIK MENCIT YANG DIINFEKSI DENGAN *Plasmodium berghei* STADIUM ERITROSITIK IRADIASI GAMMA. Salah satu strategi untuk mengontrol penyakit malaria adalah pengembangan vaksin melalui pelemahan parasit *Plasmodium berghei* dengan iradiasi gamma. Pada penelitian ini, *P. berghei* yang diiradiasi gamma dan yang tidak diiradiasi disuntikkan secara peritoneal pada mencit untuk mempelajari respons hematopoitik. Respons hematopoitik ditentukan melalui persen parasitemia, jumlah eritrosit, leukosit, limfosit, dan monosit setiap 2 hari sekali selama 14 hari. Berat organ limpa dan hati mencit diukur setiap 3 hari sesudah infeksi. Mencit yang diinfeksi dengan parasit yang diiradiasi memiliki periode prepaten 5 hari dengan parasitemia rendah dan jumlah eritrosit mengalami sedikit penurunan. Jumlah leukosit naik hampir dua kali dari konsentrasi awal, dan jumlah limfosit serta monosit juga mengalami kenaikan. Mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei* tanpa iradiasi memiliki periode prepaten 2 hari dengan parasitemia meningkat, jumlah eritrosit mengalami penurunan hingga 75%, dan jumlah leukosit tidak mengalami peningkatan. Limpa maupun hati mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei* yang diiradiasi mengalami sedikit kenaikan berat, sedangkan pada mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei* tanpa iradiasi terjadi kenaikan yang signifikan. Peningkatan jumlah leukosit, limfosit, monosit, dan rendahnya parasitemia pada mencit yang diinfeksi *P. berghei* yang diiradiasi menunjukkan terjadinya respons imun pada mencit.

Kata kunci : hematopoitik, *Plasmodium berghei*, respons imun, sinar gamma

ABSTRACT

HAEMATOPOIETIC RESPONSE OF MICE INFECTED WITH ERYTHROCYTIC STADIUM OF GAMMA IRRADIATED *Plasmodium berghei*. One strategy for controlling malaria disease is vaccine development by gamma irradiation to *Plasmodium berghei* parasite. In this research, gamma irradiated and non irradiated *P. berghei* were intraperitoneally injected to the mice to examine haematopoietic response. The haematopoietic response was observed every 2 days during 14 days by determination of parasitemia percentage, and the amount of erythrocytes, leucocytes, lymphocytes, and monocytes. The spleen and liver weight were measured every 3 days after infection. The mice infected with irradiated parasite indicated the prepatent period of 5 days with low parasitemia and decrease of erythrocytes amount. The amount of leucocytes increased almost 2 times of its initial amount, and lymphocytes as well as monocytes also increased. The mice infected with non irradiated parasite indicated prepatent period of 2 days with the increase of parasitemia, and the amount of erythrocytes was reduced about 75%, whereas the leucocytes amount did not increase. The weight of spleen and the liver of the mice infected with irradiated parasites slightly increased, whereas for the mice infected with non irradiated parasites the weight significantly increased. The increase of leucocytes and lymphocytes amount, also the low parasitemia in the mice infected with irradiated *P. berghei* indicated the occurrence of immune response in the infected mice.

Keywords: haematopoietic, *Plasmodium berghei*, immune response, gamma rays

1. PENDAHULUAN

Malaria masih merupakan penyakit endemis di Indonesia dan 50 persen penduduk masih tinggal di daerah endemik malaria. Data tahun 2007 menunjukkan adanya peningkatan kasus malaria secara signifikan dari 1,8 juta kasus pada tahun 2006 menjadi 2,5 juta kasus (1). Untuk meningkatkan upaya pengendalian malaria di Indonesia, pada tahun 2000 Menteri Kesehatan mencanangkan Gerakan Berantas Malaria (Gebrak Malaria) melalui tiga strategi, yaitu mengontrol vektor malaria, mengembangkan pemakaian obat anti malaria untuk pencegahan dan pengobatan, serta mengembangkan vaksin malaria (2).

Strategi pengembangan vaksin melalui pelemahan (atenuasi) mikroorganisme patogen atau parasit telah dilakukan sejak pertama kali vaksin ditemukan oleh Louis Pasteur (3). Berbagai metode dapat digunakan untuk menginaktifkan mikroorganisme (4), dan salah satu diantaranya adalah dengan iradiasi gamma. Penelitian vaksin malaria dengan iradiasi dimulai sejak 1967 oleh Nussenzweig (5), dan teknik ini diharapkan efektif dan spesifik untuk Indonesia atau Asia. Pada penelitian pengembangan vaksin malaria sebelumnya, telah dilakukan penentuan dosis iradiasi gamma yang secara optimal dapat melemahkan *Plasmodium berghei* stadium eritrositik (6), dan diperoleh bahwa 175 Gy merupakan dosis optimal sinar gamma dalam menghambat *P. berghei* stadium eritrositik (6).

Plasmodium berghei adalah hemoprotozoa yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia dan mempunyai sifat dasar biologi (morfologi, siklus hidup, genetika

beserta pengaturan genomnya serta fungsi dan struktur pada kandidat vaksin antigen target) sama dengan *Plasmodium* yang menyerang manusia (2). Karena sifat dasar biologi yang sama, maka pada penelitian berbagai aspek parasitologi, imunologi, dan pengembangan vaksin malaria banyak digunakan parasit rodensia dan mencit sebagai inangnya. Siklus hidup parasit malaria berlangsung pada nyamuk *Anopheles* untuk siklus seksual (sporogoni) dan pada inang vertebrata untuk siklus aseksual. Sebagian besar pertumbuhan parasit pada inang terjadi di dalam sel (intra sel), yaitu pada sel hati dan sel darah. Dalam perkembangbiakannya dalam sel hati dan darah, parasit mengalami perubahan terus menerus pada bentuk maupun struktur molekulnya, sehingga menimbulkan stimulus yang akan direspons oleh sistem imun tubuh.

Parahnya penyakit malaria berhubungan dengan densitas parasit dan kemampuan parasit bermultiplikasi baik di dalam sel hati maupun sel darah merah (eritrosit). Salah satu reaksi patologis yang menjadi ciri khusus infeksi malaria adalah pembesaran organ limpa dan hati yang disebabkan oleh banyaknya eritrosit yang terinfeksi, limfosit, dan sel makrofag yang terdeposit dalam kedua organ tersebut (7).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari reaksi imunitas yang terjadi pada mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei* yang telah diiradiasi dengan sinar gamma dosis 175 Gy maupun yang tidak diiradiasi. Reaksi imunitas diamati melalui perubahan jumlah eritrosit, leukosit, limfosit,

dan monosit darah tepi serta berat organ limpa dan hati.

2. TATA KERJA

Metode yang digunakan pada penelitian ini telah memperoleh *ethical clearance* penggunaan hewan coba dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbang Kesehatan (KEPK-BPPK) Kementerian Negara Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2011.

2.1. Hewan Coba dan Bahan Vaksin

Mencit (Swiss Webster) jantan, berumur 8-10 minggu dengan berat 30-35 gram diperoleh dari Kementrian Kesehatan, Jakarta. Sebelum digunakan untuk penelitian, mencit dikarantina terlebih dahulu selama lebih kurang 7 hari. Mencit dipelihara dalam kandang *fiber glass* dengan tutup *stainless steel* serta diberi pakan pelet dan air minum secukupnya (8). Pada penelitian ini mencit dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, yaitu mencit yang tidak diinfeksi dengan parasit atau kontrol; mencit yang diinfeksi dengan parasit yang tidak diiradiasi (kelompok 0 Gy); dan mencit yang diinfeksi dengan parasit yang diiradiasi sinar gamma 175 Gy (kelompok 175 Gy). Pada setiap kelompok perlakuan digunakan 12 ekor mencit.

Bahan vaksin merupakan stok beku *P. berghei* strain ANKA yang dibiakkan secara *in vivo* dalam tubuh mencit Swiss Webster di Laboratorium Hewan Bidang Biomedika Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi (PTKMR), BATAN. Darah perifer mencit diambil setiap hari dengan cara memotong ujung ekor, kemudian kepadatan parasit

dalam darah (parasitemia) diperiksa melalui pengamatan dengan mikroskop. Bila tingkat parasitemia mencit telah mencapai lebih dari 20% maka dilakukan pengambilan darah dari jantung menggunakan *syringe* setelah terlebih dahulu mencit dibius dengan eter. Darah yang diperoleh dari jantung ditampung dalam dua tabung mikrosentrifuse, tabung pertama tidak diiradiasi, sedangkan tabung ke dua diiradiasi dengan sinar gamma pada dosis 175 Gy menggunakan sumber cobalt-60 dengan laju dosis 380,5 Gy/jam. Iradiasi dilakukan di fasilitas Iradiator IRPASENA, Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN.

2.2. Percobaan

Mencit percobaan pada kelompok 0 Gy dan 175 Gy masing-masing diinfeksi dengan 0,3 mL darah yang mengandung $\pm 1 \times 10^7$ parasit *P. berghei* yang tidak diiradiasi dan yang diiradiasi secara penyuntikan intraperitoneal. Sebagai kontrol adalah mencit yang disuntik secara intraperitoneal dengan larutan NaCl 0,85%. Respons imun mencit diamati melalui parameter parasitemia dan jumlah sel darah setiap 2 hari selama 14 hari pasca infeksi. Sebanyak 10 μ L darah perifer diambil dari ujung ekor mencit, kemudian 2 μ L darah dilarutkan dalam 198 μ L larutan Hayem untuk pemeriksaan jumlah eritrosit, dan 2 μ L dilarutkan dalam 98 μ L larutan Turk untuk pemeriksaan leukosit. Jumlah eritrosit dan leukosit dihitung menggunakan kamar hitung Neubauer yang diamati dengan mikroskop pada pembesaran 40X. Jumlah

eritrosit dan leukosit dalam satu mm^3 darah masing-masing dihitung dengan rumus [1] dan [2].

Sel limfosit, monosit, dan parasitemia dihitung dengan cara membuat sediaan apusan darah tipis pada gelas objek menggunakan 6 μL darah. Apusan darah kemudian difiksasi dengan metanol dan diwarnai dengan larutan Giemsa 10% selama 30 menit, setelah itu dicuci pada air mengalir. Pemeriksaan dan penghitungan sel pada sediaan apusan darah dilakukan dengan bantuan mikroskop pembesaran 100 X. Jumlah limfosit dan monosit dihitung sebagai persentase sel dari keseluruhan sel leukosit pada apusan darah (9) yang dirumuskan dengan persamaan [3]. Parasitemia menunjukkan kepadatan eritrosit yang terinfeksi parasit dalam ± 5000 eritrosit atau 10 lapang pandang dan dihitung dengan rumus [4] (9).

Reaksi patologis mencit terhadap infeksi *P. berghei* diamati melalui perubahan berat organ limpa dan hati pada hari ke 4, 7, 11, 14, dan 16 pasca infeksi. Dua ekor mencit dari setiap perlakuan dibius dengan eter lalu dibedah secara ventralis. Organ hati dan limpa diisolasi lalu ditimbang.

$$\text{Eritrosit (sel/mm}^3\text{)} = (\sum \text{sel} \times \text{FP}^*) / (0,0025 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}) \quad [1]$$

$$\text{Leukosit (sel/mm}^3\text{)} = (\sum \text{sel} \times \text{FP}^*) / (0,01 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}) \quad [2]$$

*FP = faktor pengenceran

$$\text{Persentase sel limfosit atau monosit} = (\sum \text{sel limfosit atau monosit} / \sum \text{total sel leukosit}) \times 100\% \quad [3]$$

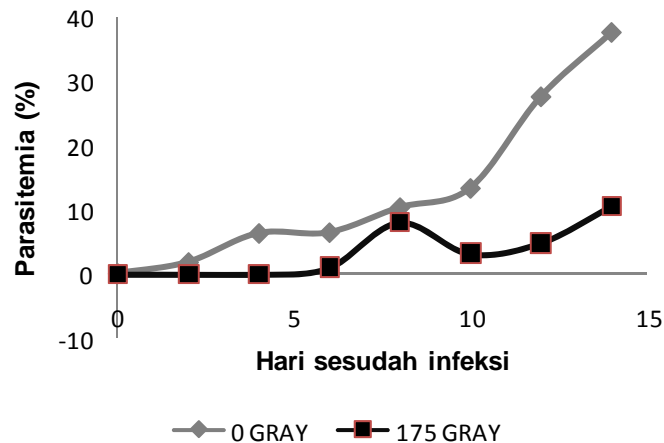
$$\text{Parasitemia} = (\sum \text{eritrosit yang terinfeksi parasit} / \sum \text{total eritrosit}) \times 100\% \quad [4]$$

2.3. Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan program statistik SPSS 16. Apabila ada perbedaan bermakna di antara ketiga perlakuan maka dilakukan uji perbandingan antara perlakuan (uji LSD) (10). Sebagai hipotesis adalah tidak ada perbedaan bermakna antar setiap perlakuan (H_0) dan terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan (H_a). Nilai $p \leq 0,05$ menunjukkan bahwa H_0 ditolak yang berarti ada perbedaan yang signifikan antara perlakuan. Apabila nilai $p \geq 0,05$ maka H_0 diterima dan berarti tidak terdapat perbedaan antar perlakuan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase parasitemia pada kelompok mencit 0 Gy dan 175 Gy diperlihatkan pada Gambar 1. Pada eritrosit mencit kelompok 0 Gy pertumbuhan parasit tidak terhambat, sehingga parasitemia sudah terlihat pada hari ke 2 pasca infeksi. Parasitemia terus meningkat hingga mencapai 38 % pada hari ke 14 dan semua mencit mati pada hari ke 17.



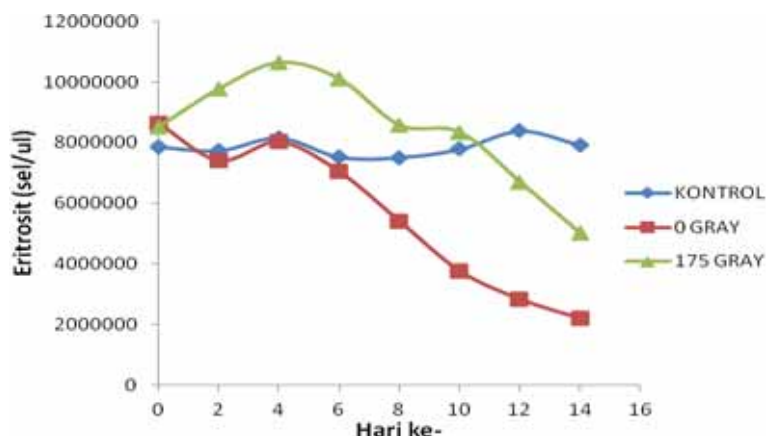
Gambar 1. Parasitemia mencit kelompok 0 Gy dan kelompok 175 Gy

Pada mencit kelompok 175 Gy, parasitemia baru terlihat hari ke 6 pasca infeksi dan sedikit meningkat hingga mencapai 10% pada hari ke 14. Kenaikan parasitemia pada kedua perlakuan secara statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

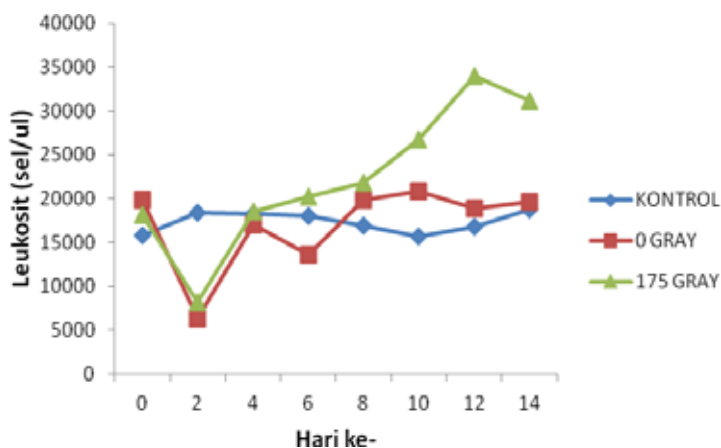
Waktu minimum mulai dari masuknya parasit ke dalam tubuh sampai terlihatnya parasit di dalam eritrosit disebut sebagai periode prepaten. Periode prepaten dan persen parasitemia dipengaruhi oleh virulensi parasit. Periode prepaten hingga 2 hari dianggap sudah signifikan menggambarkan virulensi parasit (11). Gerald dkk (12) melakukan penelitian terhadap malaria serebral pada mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei* yang diiradiasi, hasilnya memperlihatkan bahwa dosis iradiasi lebih dari 60 krad mengakibatkan pemanjangan periode prepaten lebih dari 7 hari, parasitemia rendah dan mencit tidak mengalami malaria serebral (12)

Parasit *P. berghei* stadium eritrositik berkembang biak di dalam eritrosit, sehingga peningkatan pertumbuhan parasit

akan mempengaruhi keadaan eritrosit yang berakibat pada peningkatan parasitemia, umumnya diikuti dengan penurunan kadar eritrosit pada inang. Pengaruh pertumbuhan parasit terhadap perubahan jumlah eritrosit pada mencit 175 Gy, 0 Gy, dan kontrol diperlihatkan pada Gambar 2. Kadar eritrosit pada mencit kontrol sekitar 800.000 sel/ μ l, sedangkan pada mencit kelompok 0 Gy turun hingga 75% menjadi 200.000 sel/ μ l dan mencit menderita anemia berat pada hari ke 14. Penurunan jumlah eritrosit pada mencit kelompok 175 Gy terjadi pada hari ke 10, pada hari ke 14 jumlah eritrosit mengalami penurunan sekitar 42% menjadi 670.000 sel/ μ l dan mencit belum menunjukkan gejala anemia. Penurunan eritrosit pada ketiga kelompok mencit secara statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Penelitian Dewi dkk (13) pada mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei* juga memperlihatkan adanya penurunan eritrosit yang signifikan pada hari ke 2 pasca infeksi dan mencit mengalami anemia berat sehingga mengalami kematian 8 hari pasca infeksi (13).



Gambar 2. Jumlah eritrosit mencit kontrol, kelompok 0 Gy, dan kelompok 175 Gy



Gambar 3. Jumlah leukosit mencit kontrol, mencit kelompok 0 Gy, dan mencit kelompok 175 Gy

Leukosit yang berperan dalam sistem imun tubuh mengalami penurunan jumlah di hari ke 2 pasca infeksi pada dua kelompok mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei*. Pada hari ke 12 pasca infeksi, jumlah leukosit mencit kelompok 175 Gy meningkat hampir dua kali dari konsentrasi awal, sedangkan mencit kelompok 0 Gy mengalami sedikit kenaikan jumlah leukosit (Gambar 3). Kadar leukosit pada mencit kontrol tidak mengalami perubahan. Jumlah leukosit pada ketiga kelompok mencit secara statistik menunjukkan perbedaan

yang bermakna ($p < 0,05$). Leukosit adalah sel darah yang berperan dan bertanggung jawab dalam pertahanan seluler dan humoral organisme terhadap zat-zat asing dan berbahaya bagi tubuh (14). Peningkatan jumlah leukosit dapat menekan pertumbuhan parasit, hal ini terlihat pada mencit kelompok 175 Gy yang mengalami peningkatan respons imun. Menurut Supargiyono (14), perubahan jumlah leukosit lebih cepat terjadi pada mencit yang imun dibanding pada mencit yang tidak imun.

Limfosit dan monosit merupakan leukosit yang berperan dalam respon imun. Persentase jumlah sel limfosit dan monosit pada mencit kelompok 0 Gy maupun kelompok 175 Gy disajikan pada Tabel 1. Pada kedua kelompok mencit, persentase sel limfosit mengalami kenaikan hingga hari ke 6 pasca infeksi, setelah itu jumlah sel limfosit menurun. Kenaikan limfosit pada kelompok mencit 175 Gy lebih tinggi dibandingkan dengan mencit 0 Gy. Jumlah monosit pada kelompok mencit 0 Gy maupun 175 Gy mengalami peningkatan pasca infeksi, dan peningkatan jumlah sel monosit pada kelompok 175 Gy lebih tinggi dibandingkan kelompok mencit 0 Gy. Supargiyono dkk (14) meneliti perubahan fungsi dan proliferasi limfosit-T pada mencit yang telah diberi imunisasi selama infeksi dengan *P. berghei* dan hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah limfosit dalam darah mencit yang telah diimunisasi meningkat sekitar 42 % di atas normal dibandingkan dengan limfosit yang berasal dari mencit yang tidak diimunisasi (14).

Peningkatan jumlah limfosit juga disertai dengan peningkatan jumlah leukosit dan makrofag sebagai benteng pertahanan terhadap parasit. Kenaikan kedua jenis leukosit pada kedua kelompok mencit secara statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Parasit yang masuk ke dalam sirkulasi darah direspons oleh sistem imun tubuh secara non spesifik dan selanjutnya secara spesifik. Respons imun non spesifik merupakan efektor pertama dalam memberikan perlawanan terhadap infeksi. Leukosit merupakan komponen darah yang berperan dalam sistem imun dan jenis sel leukosit yang berperan dalam respons imun adalah limfosit dan monosit (14). Monosit adalah jenis sel fagosit yang akan menghancurkan antigen dengan cara menelannya, sedangkan limfosit banyak berperan dalam sistem imunitas tubuh. Limfosit setelah dilepaskan dari sumsum tulang akan mengalami differensiasi lebih lanjut menjadi sel imunokompeten (15).

Tabel 1. Perubahan persentase limfosit dan monosit pada mencit kelompok 0 Gy dan 175 Gy

Hari sesudah infeksi	Limfosit (%)		Monosit (%)	
	0 Gy	175 Gy	0 Gy	175 Gy
0	26,9 ± 3,6	28,5 ± 1,2	2,3 ± 1	0,8 ± 0,1
2	44,1 ± 4,7	48,6 ± 3,2	3,6 ± 1,2	2,4 ± 1
4	47,6 ± 4,9	63,4 ± 2,6	6,7 ± 1,7	3,6 ± 1
6	58,0 ± 5,1	63,5 ± 2,8	5,8 ± 1,7	14,6 ± 2,2
8	45,9 ± 4,3	54,7 ± 2,4	10,3 ± 1,8	9,2 ± 2
10	44,0 ± 4,1	60,1 ± 5,1	5,0 ± 1,3	10,9 ± 2,4
12	38,9 ± 3,8	54,0 ± 6,2	5,8 ± 0,7	7,9 ± 1,5
14	37,3 ± 3,5	50,1 ± 4,5	8,1 ± 1,5	9,0 ± 2,3

Tabel 2. Perubahan berat limpa dan hati pada mencit kelompok 175 Gy dan 0 Gy

Hari sesudah infeksi	Organ Limpa (gr)		Organ Hati (gr)	
	0 Gy	175 Gy	0 Gy	175 Gy
0	0,17 ± 0,03	0,14 ± 0,05	1,61 ± 0,08	1,3±0,04
4	0,23 ± 0,015	0,13 ± 0,024	1,64 ± 0,082	1,37±0,015
7	0,44 ± 0,074	0,22 ± 0,014	1,95 ± 0,083	1,48±0,49
11	0,49 ± 0,013	0,23 ± 0,075	2,39 ± 0,025	1,98±0,069
14	0,79 ± 0,019	0,35 ± 0,015	2,49 ± 0,03	1,90±0,34
16	0,75 ± 0,017	0,28 ± 0,014	2,53 ± 0,04	1,68±0,018

Parasit yang dilemahkan dapat memicu respons imun yang akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan *Plasmodium* di dalam eritrosit dan menyebabkan reduksi parsial parasitemia. Pada penelitian ini, respons imun yang terjadi ditunjukkan oleh kenaikan yang relatif signifikan pada jumlah leukosit, limfosit, dan monosit mencit yang diinfeksi dengan parasit yang diiradiasi (kelompok 175 Gy) dibandingkan dengan mencit kelompok 0 Gy.

Limpa dan hati merupakan organ yang berhubungan dengan sistem sirkulasi darah dan merupakan organ yang mengalami perubahan patologik pada saat terjadi infeksi malaria. Pembesaran limpa (splenomegali) merupakan salah satu gejala klinis malaria, dan dapat dideteksi satu minggu sejak mulai timbulnya gejala klinis. Kedua kelompok mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei* mengalami peningkatan ukuran dan berat limpa (Tabel 2). Pada hari ke 14, berat limpa mencit kelompok 0 Gy mengalami peningkatan hingga empat kali berat awal, sedangkan pada mencit kelompok 175 Gy berat limpa meningkat dua kali lipat. Kenaikan berat limpa pada kedua

kelompok mencit secara statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).

Limpa merupakan tempat terjadinya filtrasi eritrosit yang terinfeksi parasit, mengalami deformitas dan terikat dengan antibodi untuk selanjutnya dirusak oleh makrofag. Selain itu limpa juga merupakan tempat mempertemukan antigen parasit dengan sistem imun tubuh, dan diduga limpa adalah tempat utama pengaturan sistem imun untuk menentukan komponen imunitas yang akan diaktifkan (7). Splenomegali hispatologik (disebabkan kondisi klinis) terlihat pada mencit kelompok 0 Gy yang ditandai dengan limpa membesar dan lunak dengan warna merah gelap akibat pigmen dan eritrosit yang terdeposit dalam limpa. Untuk kelompok mencit 175 Gy splenomegali lebih disebabkan oleh kondisi imunologik (splenomegali hiperaktif) yang ditandai dengan bentuk limpa yang masif dan persisten dengan infiltrasi limfoid sinus hati serta diiringi dengan meningkatnya kadar antibodi. Diduga splenomegali ini disebabkan oleh pembentukan kompleks imun sebagai akibat dari produksi IgM yang berlebihan serta agregasi makromolekul dari

kompleks imun oleh fagosit limpa mononukleus. Pembesaran limpa hiperaktif terlihat pada mencit yang diimunisasi (14).

Mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei* juga mengalami peningkatan ukuran dan berat organ hati (Tabel 2). Kenaikan berat organ hati pada mencit kelompok 0 Gy lebih tinggi dibandingkan dengan mencit kelompok 175 Gy, dan secara statistik kenaikan berat organ hati pada kedua kelompok mencit menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Dari hasil pengamatan terlihat bentuk hati kongestif, lebih besar, tegang dengan tepi tumpul, serta berwarna lebih gelap atau coklat tua. Perubahan jaringan patologik yang ditemukan secara makroskopik dan mikroskopik mengindikasikan hubungan dengan infeksi darah. Sel hati membengkak dan mengandung pigmen malaria dan secara mikroskopik terlihat hiperplasi pada sel kupffer. Sel Kupffer, seperti sel dalam sistem retikuloendotelial, terlibat dalam respons fagositosis, akibatnya hati menjadi berwarna kecoklatan agak kelabu atau kehitaman. Hepatomegali dengan infiltrasi sel mononukleus merupakan bagian dari sindrom pembesaran hati (7).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa iradiasi 175 Gy dapat melemahkan parasit *P. berghei*, sehingga virulensi dan daya invasi parasit menurun. Hal ini ditandai dengan rendahnya parasitemia, tidak terjadinya anemia, splenomegali dan hepatomegali klinis pada mencit yang diinfeksi dengan parasit yang diiradiasi. Kadar leukosit, limfosit, dan monosit yang lebih tinggi secara bermakna pada mencit yang diinfeksi dengan parasit yang diiradiasi,

membuktikan parasit yang lemah mengaktifkan komponen sistem imun dalam darah.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa parasitemia, berat limpa dan hati mencit yang diinfeksi dengan parasit yang diiradiasi 175 Gy secara signifikan lebih rendah dari mencit kelompok 0 Gy. Jumlah eritrosit, leukosit, limfosit serta monosit mencit yang diinfeksi dengan parasit yang diiradiasi 175 Gy secara signifikan lebih tinggi dari mencit kelompok 0 Gy.

Parasit *P. berghei* yang dilemahkan dengan iradiasi gamma dapat memicu respons imun mencit dan menghambat pertumbuhan serta perkembangan *Plasmodium* di dalam eritrosit, sehingga diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai kandidat vaksin malaria.

5. DAFTAR PUSTAKA

1. Langhorne J, Quin SJ, Sanni LA. Mouse models of blood stage malaria infections : immune responses and cytokines involved in protection and pathology. Chem Immunol 2002 August; 204-28.
2. Malaria cases in Indonesia increases to about 3M in 2007: health official says. Jakarta Post 2008 Jan 21.
3. Plotkin SL, Plotkin SA. A short history of vaccination. In: Plotkin SA, Orenstein WA, editors. Vaccine. 3rd ed. Philadelphia: Saunders;1999.
4. Raz E, Joshua F. Using gamma radiation preserves T-cell responses in

- bacteria vaccine. San Diego: School of Medicine, University of California; 2006.
5. Ballou WR. Malaria vaccines in development. *Expert Opin Emerg Drugs* 2005;10: 489-503.
 6. Darlina, Tetriana D. Daya infeksi *Plasmodium berghei* stadium eritrositik yang diiradiasi sinar gamma. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Keselamatan Radiasi dan Lingkungan*; 2007; Jakarta: PTKMR BATAN.
 7. Nugroho A, Harijanto PN, Datau EA. Imunologi malaria. In: Harijanto PN, editor. *Malaria: epidemiologi, patogenesis, manifestasi klinis, dan penanganan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran (EGC); 2003.
 8. *Guide for the care and use of laboratory animals*. 8th ed. Washington DC: The National Academies Press; 2011.
 9. Jungstrom I, Perlaman H, Schilchtherle M, Shere A, Wahlgreen M. *Methods in malaria research*. MR4/ATCC. Virginia: Manassas; 2004.
 10. Santoso S. *Menguasai statistik di era informasi dengan SPSS 15*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo; 2006.
 11. Landau I, Boulard Y. Life cycles and morphology. In: Rodent malaria. Killick-Kendrick R, Peters W, editors. London: Academic Press; 1978.
 12. Gerald NJ, et al. Protection from experimental cerebral malaria with a single dose of radiation-attenuated, blood stage *Plasmodium berghei* parasites. Vol 6. [Online].[cited 2011 Sept]. Available from: www.plosone.org.
 13. Dewi RM, Harijani AM, Emiliana T, Suwarni, Yekti, RP. Keadaan hemotologis mencit yang diinfeksi dengan *P. berghei*. *Cermin Dunia Kedokteran* 1996;106: 37-40.
 14. Supargiyono. Perubahan fungsi dan proliferasi limfosit-T pada mencit yang telah diberi vaksinasi selama infeksi dengan *Plasmodium berghei* malaria. Laporan penelitian. Yogyakarta: FK UGM; 1995.
 15. Stevenson MM, Zavala F. Immunology malaria infections. *Parasite Immunology* 2006; 28: 1-4.